

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

**СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ
В РОССИИ**

Том 9

**МАТЕРИАЛЫ ПЯТОГО СЪЕЗДА
МИКОЛОГОВ РОССИИ**

Москва
2022

ББК 28.591
УДК 58-616.5
С56

Главный редактор
Сергеев А.Ю.
Заместитель главного редактора
Кураков А.В.

Редакционная коллегия:

Белозерская Т.А.	Левитин М.М.
Бибикова М.В.	Мокеева В.Л.
Биланенко Е.Н.	Мухин В.А.
Бурова С.А.	Озерская С.М.
Бондарцева М.А.	Сидорова И.И.
Воронина Е.Ю.	Ткаченко О.Б.
Гагкаева Т.Ю.	Тремасов М.Ю.
Еланский С.Н.	Толпышева Т.Ю.
Журбенко М.П.	Шнырева А.В.
Кураков А.В.	Чекунова Л.Н.

С56 Современная микология в России. – Т. 9. Материалы 5 Съезда микологов России.
М.: Национальная академия микологии, 2022. – 436 с.

В девятый том периодического сборника научных трудов “Современная микология России” вошли 6 выпусков, содержащих 11 глав материалов Пятого Съезда микологов России, посвященные теоретическим и прикладным вопросам микологии: от генетики и морфологии до грибных биотехнологий. Труды делегатов Съезда, имеющие преимущественное значение для медицины и ветеринарии, вышли в сборнике “Успехи медицинской микологии” за 2022 год.

ББК 28.591
УДК 58-616.5

*Издано в Российской Федерации в рамках программы
и по рекомендации Ученого Совета Национальной академии микологии*

ISBN 978-5-901578-36-0

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Current Mycology in Russia

Том 9

Выпуск 1.
**Генетика, морфология и
физиология грибов**

Глава 1.
**Генетика, геномика и протеомика
грибов**
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.01

Глава 2.
Физиология и биохимия грибов
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.02

Глава 3.
Биология дрожжей
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.03

Volume 9

Issue 1.
**What's new in fungal genetics, physi-
ology and morphology**

Chapter 1.
**Studies in fungal genetics, genomics and
proteomics**
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.01

Chapter 2.
Fungal physiology and biochemistry
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.02

Chapter 3.
Yeast biology
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.03

Содержание выпуска 1

Глава 1. Генетика, геномика и протеомика грибов

МУЛЬТИЛОКУСНОЕ ТИПИРОВАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ <i>DALDINIA LOCULATA</i> – <i>DALDINIA NEMOROSA</i> Аксенова М.А., Александрова А.В., Антонов Е.А.	6
РОЛЬ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ НЕСООТВЕТСТВИЙ ГЕННЫХ ДЕРЕВЬЕВ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ ТАКСОНОМИИ БАЗИДИОМИЦЕТОВ Кокаева Л.Ю., Винер И.А.	7
РОЛЬ ГЕНОФОНДА ГОСУДАРСТВЕННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ВНИИ ФИТОПАТОЛОГИИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ Коломиец Т.М., Жемчужина Н.С., Киселева М.И., Пахолкова Е.В., Панкратова Л.Ф., Глинушкин А.П.	10
ДОСТИЖЕНИЯ В МИКОЛОГИИ В НАЧАЛЕ XXI ВЕКА Кураков А.В.	12
О ПРИЛОЖЕНИЯХ ОПТИЧЕСКОГО МЕТОДА АНАЛИЗА АЭРОДИСПЕРСНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ И СОРТИРОВКИ СПОР: ОТ СЧЁТА ЧАСТИЦ ДО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ И КЛАССИФИКАЦИИ СПОР В ЗАДАЧАХ МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКОЙ ТАКСОНОМИИ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЙ СИСТЕМАТИКИ Макавеев П.Ю., Градов О.В., Жуланов Ю.В.	13
ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ИЗОЛЯТОВ <i>MICRODOCHMIUM NIVALE</i> Мещеров А.Р., Гоголева О.А., Мурзагулова Г.Ш., Сахабутдинов И.Т., Рязанов Е.А., Осипова Е.В., Пономарева М.Л., Пономарев С.Н., Горшков В.Ю.	14
ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ШТАММОВ <i>ASPERGILLUS</i> SPP. СЕКЦИИ <i>NIGRI</i> НА КОМПОЗИЦИЮ ИХ MALDI-МАСС-СПЕКТРОВ Рябинин И.А.	15
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПО ГЕНАМ <i>TEF-1A</i> , <i>EPL-1</i> И <i>TRI5</i> ШТАММОВ ГРИБОВ РОДА <i>TRICHODERMA</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ АНТРОПОГЕННО ЗАГРЯЗНЕННЫХ МЕСТ Шеримбетов А.Г., Зайнитдинова Л.И.	17
ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИИ ГРИБОВ Шнырева А.В.	19
ТРОПИЧЕСКИЕ ВИДЫ РОДА <i>GANODERMA</i> : БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ Шнырева А.В., Эспиноза В., Тригос А.	21
КЛЮЧЕВЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ, ПРОИСХОДЯЩИЕ В ГЕНОМАХ ВЫСОКОАКТИВНЫХ ГРИБНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ПРИ УЛУЧШЕНИИ КЛАССИЧЕСКИМ МЕТОДОМ Жгун А.А.	22

Глава 2. Физиология и биохимия грибов

БИОСИНТЕЗ ИЛИЦИКОЛИНОВ СИБИРСКИМИ ФИТОПАТОГЕННЫМИ ГРИБАМИ РОДА <i>CORINESTRIA GONZALEZ & CHAVERRI</i> Антипова Т.В., Желифонова В.П., Баскунов Б.П., Литовка Ю.А., Павлов И.Н.	24
ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ УПРАВЛЕНИЯ В ГИФЕ <i>NEUROSPORA CRASSA</i> Асланиди К.Б.	26
МОДИФИКАЦИЯ СПОР МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ПРИРОДНЫМИ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТАМИ Бокарева Д.А., Мысякина И.С., Ванцянь М.А.	27
МЕМБРАННЫЕ ЛИПИДЫ И ОСМОЛИТЫ В АДАПТАЦИИ АЦИДОФИЛЬНОГО БАЗИДИОМИЦЕТА <i>SISTOTREMA BRINKMANNII</i> Януцевич Е.А., Данилова О.А., Грум-Гржимайло О.А., Терёшина В.М.	29
БИОЛУМИНЕСЦЕНТНЫЕ ГРИБЫ: ПРОИСХОЖДЕНИЕ, СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ Камзолкина О.В., Мажейка И.С.	31
ВЛИЯНИЕ СТРЕССОРНЫХ ФАКТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ КАТЕХОЛ-1,2-ДИОКСИГЕНАЗЫ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ <i>LENTINUS EDODES</i> И <i>GRIFOLA FRONDOSA</i> Лощинина Е.А., Купряшина М.А.	32
НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА ГРИБНЫЕ ЛОМАСОМЫ И ДРУГИЕ ИНВАГИНАЦИИ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ Мажейка И.С., Мажейка К.И., Камзолкина О.В.	35
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НИЗКОЧАСТОТНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ С ЧАСТОТОЙ ШУМАНОВСКОГО РЕЗОНАНСА 14,3 ГЦ НА ХАРАКТЕР ПРОРАСТАНИЯ МИЦЕЛИЯ МИКРОМИЦЕТА <i>TRICHODERMA VIRIDAE</i>	

Мшенская Н.С., Чуркина Л.М., Кононова У.А., Ларина М.В., Григорьева Т.М., Сеницына Ю.В., Кальясова Е.А.	37
NEUROSPORA CRASSA КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПРОЦЕССОВ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ КОММУНИКАЦИЙ У ГРИБОВ	
Потапова Т. В., Белозерская Т.А.	38
МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ КСЕРОГАЛОФИЛЬНОГО МИКРОМИЦЕТА ASPERGILLUS PENICILLIOIDES К ТЕПЛООВОМУ ШОКУ	
Терёшина В.М., Данилова О.А., Януцевич Е.А., Бондаренко С.А., Антропова А.Б.	40
МАГНИТНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ СТАДИИ КОНИДИЕГЕНЕЗА ФИТОПАТОГЕННОГО ГРИБА <i>VIPOLARIS SOROKINIANA</i> (S. ITO & KURIB.)	
Воробьев Н.И., Коваленко Н.М., Попова Э.В., Толмачев С.Ю.	41
ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ПРОДУКЦИЕЙ АНТИБИОТИКА ЦЕФАЛОСПОРИНА С И БИОСИНТЕЗОМ ПОЛИАМИНОВ У <i>ACREMONIUM CHRYSOGENUM</i>	
Жгун А.А., Эльдаров М.А.	43
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СВОЙСТВ ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗ ГРИБОВ РОДА <i>ASPERGILLUS</i>	
Жуковская Л.А., Семашко Т.В., Мунтянова М.В.	44

Глава 3. Биология дрожжей

ИЗУЧЕНИЕ НАСЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ ФЛОКУЛЯЦИИ У ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i>	
Борисенко О.А.	46
МИКОЦИН ОБРАЗУЮЩИЕ ШТАММЫ <i>SCHWANNIOMYCES OCCIDENTALIS</i>	
В. И. Голубев	47
ВОЗДЕЙСТВИЕ БЕЛКА С АМИЛОИДНЫМИ СВОЙСТВАМИ BGL2P КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> НА СОСТОЯНИЕ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ И ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ	
Т.С. Калебина, В.В. Рекстина, А.Г. Королев, А.Н. Иноземцев.	48
ЭГОИСТИЧНЫЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ДНК ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i>	
Кашко Н.Д.; Кнорре Д.А.	50
ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ИНГИБИРОВАНИЯ АТФАЗНОЙ АКТИВНОСТИ АТФ-СИНТАЗЫ ДРОЖЖЕЙ	
Лапашина, А.С.; Галкина, К.В.; Кашко, Н.Д.; Зубарева, В.М.;	
Маркова, О.В.; Кнорре, Д.А.; Фенюк, Б.А.	51
ДРОЖЖИ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ДВУКРЫЛЫМИ, ОБИТАЮЩИМИ В ЛИТОРАЛЬНЫХ ВАННАХ БЕЛОГО МОРЯ	
Максимова И.А., Яковлева Е.Ю.	53
АКТИВАЦИЯ СИСТЕМЫ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ДРОЖЖЕЙ <i>S.CEREVISIAE</i> ПУТЕМ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ КОММУНИКАЦИИ	
Носкова Е.О., Киреева Н.А., Кнорре Д.А., Галкина К.В.	54
ОСОБЕННОСТИ ВИДОВОГО СОСТАВА ДРОЖЖЕЙ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ	
Пономарева А.М., Туаева А.Ю., Наумова Е.С.	56
НАРУШЕНИЕ ГЕНОВ <i>LAM</i> , КОДИРУЮЩИХ ТРАНСПОРТЕРЫ СТЕРИНОВ, СНИЖАЕТ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СПОРУЛЯЦИИ У ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i>	
Северин Ф.Ф., Соколов С.С.	58
ИОННЫЕ ЖИДКОСТИ СТИМУЛИРУЮТ РОСТ КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> С НАРУШЕНИЕМ РЕГУЛЯЦИИ ГЛИКОЛИЗА	
Соколов С.С., Северин Ф.Ф.	59
СВОЙСТВА ШТАММОВ <i>RHODOTORULA MUCILAGINOSA</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РС МКС И МЕДИЦИНСКОГО УЧРЕЖДЕНИЯ.	
Еникеев Р.Р., Захарчук Л.М.	60

Глава 1

Генетика, геномика и протеомика грибов

doi: 10.14427/cmr.2022.ix.01

МУЛЬТИЛОКУСНОЕ ТИПИРОВАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ *DALDINIA LOCULATA* – *DALDINIA NEMOROSA*

Аксенова М.А., Александрова А.В., Антонов Е.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Грибы являются одной из крупнейших групп эукариот, по разным оценкам содержащей до 3,8 млн видов [1]. В связи с огромным разнообразием в экологии, биологии и типе питания грибов, а также наличием таких факторов, как, например, существование криптических видов (видов-двойников), подходы к систематике, основанные только на морфологических характеристиках грибов, являются недостаточными для создания точной таксономической характеристики групп грибов или их отдельных представителей [1, 2–4].

Филогенетические исследования грибов получили большой скачок в развитии с появлением молекулярных методов, позволяющих определять принадлежность организма к таксону на основе информации о последовательности его ДНК и ДНК близкородственных организмов [3, 4]. На данный момент надежной, перспективной и широко используемой в исследованиях является мультилокусная филогения, оценивающая принадлежность организма к таксону на основе последовательностей нескольких локусов ДНК [2, 4].

Род *Daldinia* относится к семейству *Hypoxylaceae* порядка *Xylariales* и представлен массовыми эндофитами покрытосеменных растений [5]. Многие виды, относящиеся к данному роду, являются криптическими, то есть, почти неотличимыми друг от друга по морфологическим признакам. Более того, некоторые из них неотличимы друг от друга также при построении филогенетического дерева с использованием одного локуса ITS, являющегося стандартным маркером грибов для «баркодинга ДНК» [3, 4, 6]. Таксономия данного рода и видов внутри него претерпевает значительные изменения в последнее время, и использование мультилокусной филогении для исследований данного рода является актуальным.

В работе были использованы штаммы из коллекции культур микроскопических грибов кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ (MSU_FS-), являющейся частью Депозитария живых систем «Ноев ковчег». Данные штаммы собраны из 5 различных регионов и интересны тем, что были выделены из почвы, подстилки смешанных и хвойных лесов, а также с шерсти мелких млекопитающих. Предварительно они были идентифицированы как свободноживущей в почве анаморфный вид *Annelosporium nemorosum* M.L. Davey [7], позже переименованный как *Daldinia nemorosa* (M.L. Davey) M. Stadler, J. Fourtn. & Læssøe [6]. В то же время они были морфологически похожи на анаморфную стадию *Daldinia loculate* (Lév.) Sacc. В связи с этим было сделано предположение, что грибы из исследуемой коллекции культур могут относиться и к данному виду. Один штамм из коллекции был выделен из стромы и предположительно относился к другому виду.

Исследуемые 9 штаммов были культивированы на твердой агаризованной среде на основе неохмелённого пивного сусла, затем из них была выделена ДНК для получения последовательностей трёх локусов: ITS, LSU и BenA. Из базы данных GenBank были выгружены последовательности указанных локусов всех видов *Daldinia*, у которых они присутствовали. Помимо этого, была выбрана внешняя группа, содержащая представителей семейства *Hypoxylaceae*, родов *Hypoxylon*, *Pyrenomyxa*, *Annilohypoxylon*. Приоритет при отборе отдавался локусам, полученным из типовых образцов.

Был проведен филогенетический анализ штаммов сначала по каждому локусу в отдельности, а потом по всем трём локусам сразу. Для проведения анализа были построены филогенетические деревья при помощи сервиса IQ-TREE (метод Maximum likelihood, bootstrap 1000). Результаты показали, что, во-первых, последовательности ITS и BenA (последовательности локуса LSU для данных видов отсутствовали) *D. nemorosa* и *D. loculata*, полученные из GenBank, неотличимы друг от друга; во-вторых, последовательности всех трёх локусов у 8 штаммов из 9 незначимо различаются между собой и могут быть отнесены к одному виду; в-третьих, последовательности этих 8 штаммов незначимо отличаются либо же идентичны последовательностям *D. nemorosa* и *D. loculata*, потому, наиболее вероятно, принадлежат данной группе видов. Девятый исследуемый штамм, согласно результатам анализа, принадлежит виду *D. vernicosa*. Данные результаты были подтверждены как анализом отдельных деревьев, так и мультилокусным анализом.

При описании вида *D. nemorosa* основными аргументами в пользу выделения его как отдельного вида были место находки штамма (почва из логова американского корсака) и размер конидий, составляющий 4,5–7 × 2,5–4 мкм против 6–7,5 × 4,5–5 мкм у *D. loculata* [7]. Для проверки второго аргумента была составлена морфологическая характеристика 8 штаммов, показавших принадлежность к группе видов *D. nemorosa* — *D. loculata*. Размеры измеренных конидий каждого из штаммов охватывали оба диапазона, подтверждая, что размер конидий, скорее всего, зависит от условий произрастания источника штамма и не может являться определяющим критерием для выделения *D. nemorosa* в отдельный вид, учитывая, что на текущий момент была совершена всего одна находка данного вида — в анаморфной стадии развития.

При описании *D. nemorosa* автором было сделано предположение о понимании *D. loculata* не как единого вида, а как комплекса близкородственных видов [7]. Данное предположение кажется целесообразным, учитывая, к примеру, внутривидовую изменчивость локуса *BenA* *D. loculata*. Этот вопрос рекомендуется к дальнейшему пристальному изучению с целью ревизии состава данного видового комплекса в системе рода *Daldinia*.

Список литературы

1. Hawksworth D. L., Lücking R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiology spectrum*. 2017; 5(4): 1-17.
2. Wedaralalage T. C. K., Jayawardena R. S., Hyde K. D. Hurdles in fungal taxonomy: Effectiveness of recent methods in discriminating taxa. *Megataxa*. 2020; 1(2):114-122.

3. Peršoh D. Plant-associated fungal communities in the light of metaomics. *Fungal Diversity*. 2015; 75(1): 1-25.
4. Bálint M., Bahram M., Eren A M. et al. Millions of reads, thousands of taxa: microbial community structure and associations analyzed via marker genes. *FEMS microbiology reviews*. 2016; 40(5): 686-700.
5. Johannesson H. Ecology of *Daldinia* spp. with special emphasis on *Daldinia loculata*. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*. 2000. 168: 8.
6. Stadler M., Læssøe T., Fournier J. et al. A polyphasic taxonomy of *Daldinia* (Xylariaceae). *Studies in Mycology*. 2015; 80(1): 131-150.
7. Davey M. L. *Annelosporium nemorosum* gen. et sp. nov., an annellidic anamorph with phylogenetic affinities to the genus *Daldinia* (Xylariales). *Karstenia*. 2010; 50(1): 1-10.

РОЛЬ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ НЕСООТВЕТСТВИЙ ГЕННЫХ ДЕРЕВЬЕВ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ ТАКСОНОМИИ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

Кокаева Л.Ю.1, Винер И.А.2

¹Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

²Университет Хельсинки, Хельсинки, Финляндия

Резюме: Построенные на основе разных молекулярных маркеров филогенетические деревья часто противоречат друг другу. Одной из причин этого явления может быть процесс неполного расхождения генеалогических линий. Однако, обнаруженное филогенетическое несоответствие может быть вызвано и другими эволюционными процессами, которые имеют значение для построения таксономии. В таком случае важно иметь представление о процессах, нарушающих согласованность деревьев. В данном исследовании мы рассматриваем случай несоответствия между топологиями генных деревьев на *Basidiouradulum radula* (Fr.) Nobles, морфологически изменчивом кортициоидном виде, широко распространенном в Голарктике и его синониме *Hyphodontia syringae* Langer, описанном в Китае.

В настоящее время большинство таксономических исследований базидиомицетов проводится с помощью анализа ограниченного числа ДНК локусов. Как правило, выбор молекулярных маркеров основывается на некоторых общих данных о примерной скорости их эволюции в других группах грибов, на удобстве работы (многокопийные гены), и наличии сравнительного материала в Генбанке. На практике чаще всего используются сцепленные локусы, как например ITS регион и 28S ген рДНК. Однако, во всех случаях для получения надежных результатов желательно использовать несколько маркеров, эволюционировавших независимо друг от друга.

Для ряда видов наблюдалась высокая морфологическая изменчивость, которая сопровождалась несоответствием между топологиями генных деревьев. Это можно объяснить возможными различными сценариями эволюции генов, такими как неполное расхождение генеалогических линий (incomplete lineage sorting) и интрогрессивной гибридизации (интрогрессии), в том числе гибридизации между популяциями - потоке генов. Когда обнаруживаются несоответствия в топологии филогенетических деревьев, важно определить причину наблюдаемой закономерности: при неполном расхождении линий, которое часто происходит у истинно генетически изолированных видов, различные варианты одного и того же локуса ДНК, гаплотипы,

уже присутствовали в предковой популяции. По каким-то стохастическим причинам эти гаплотипы закреплялись в популяциях потомков. С другой стороны, локусы, общие в результате интрогрессии, могут указывать на поток генов между популяциями в пределах одного вида. Явные признаки потока генов между дивергировавшими популяциями могут указывать на принадлежность изучаемого материала к одному виду.

Целью настоящего исследования являлось уточнение таксономического статуса вида *Hyphodontia syringae* Langer, описанного в Китае и *Basidiouradulum radula* (Fr.) Nobles, морфологически изменчивого кортициоидного вида, широко распространенного в Голарктике. Для этого был проведен филогенетический анализ на основе четырех несцепленных генетических локусов (*gh63*, *ITS*, *gpb2* и *tef1*) большого числа образцов *B. radula* и *H. syringae*, собранных с различных типов древесных субстратов в Северной Америки и Евразии (Viner et al., 2021).

Полученные данные были проанализированы методами максимального правдоподобия (ML) и Байесовского анализа (BI).

Каждый набор полученных последовательностей белок-кодирующих генов (*gh63*, *gpb2* и *tef1*) состоял из двух различных групп (гаплотипов), отличающихся пятью-девятью филогенетически информативными сайтами. Эти группы гаплотипов не были идентичными у разных генов. При этом, в ряде образцов наблюдалась гетерозиготность нуклеотидных пар в *ITS1* и *ITS2* регионах и гене *tef1*. В этом случае образец рассматривался как носитель аллелей двух гаплотипов и представлен в филогенетических деревьях в обоих вариантах (рис. 1, 3, 4).

Филогенетические деревья, построенные на основе разных генов, не совпадали друг с другом. Поэтому четыре маркера (*gh63*, *ITS*, *gpb2*, *tef1*) были проанализированы по отдельности. Поскольку топология деревьев, построенная с помощью метода максимального правдоподобия соответствовала топологии Байесовского

анализа, мы представляем здесь только топологию ВІ. При анализе всех маркеров выявлялись две хорошо

поддерживаемые клады (рис. 1-4), но полученные деревья различались по топологии.

Рисунок 1. Филогенетическое дерево (метод Байесовского анализа) для последовательности ITS региона с учетом всех замен. Числа показывают байесовские апостериорные вероятности/значения бутстрепа; длины ветвей отражают количество генетических различий. Звездочками отмечены различные α и β -гаплогипы, присутствующие в одном и том же образце. В анализе использовались образцы, собранные в Европе и Сибири, Восточной Азии, западной части Северной Америки (Wash., Idaho), восточной части Северной Америки (Massach., New Ham., Wisc.) и Австралии.



Рисунок 2. Различия в топологии филогенетических деревьев *gh63* и *rpb2*, полученных в результате ВІ-анализа. Линии соединяют образцы *Basidioradulum radulum* и *Hyphodontia syringae*, присутствующие в обеих филогениях. В анализе использовались образцы, собранные в Европе и Сибири, Восточной Азии, западной части Северной Америки (Idaho) и восточной части Северной Америки (Massach.).

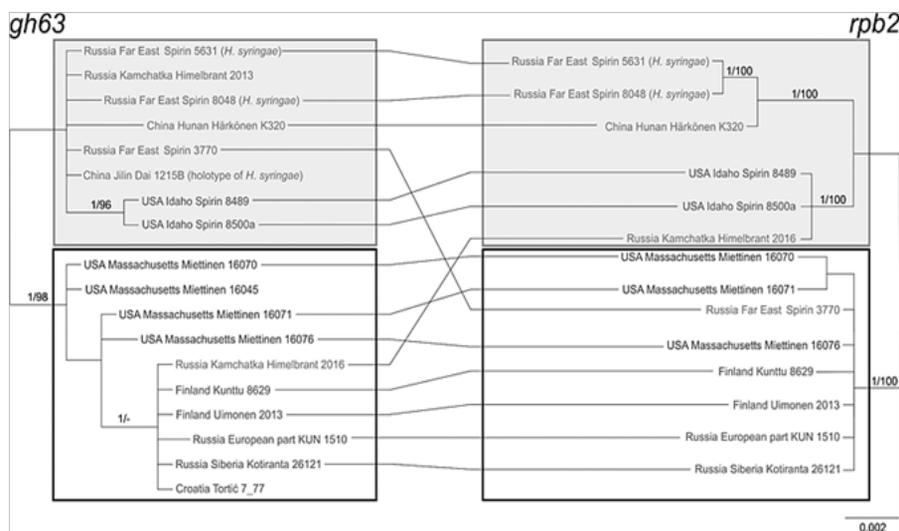
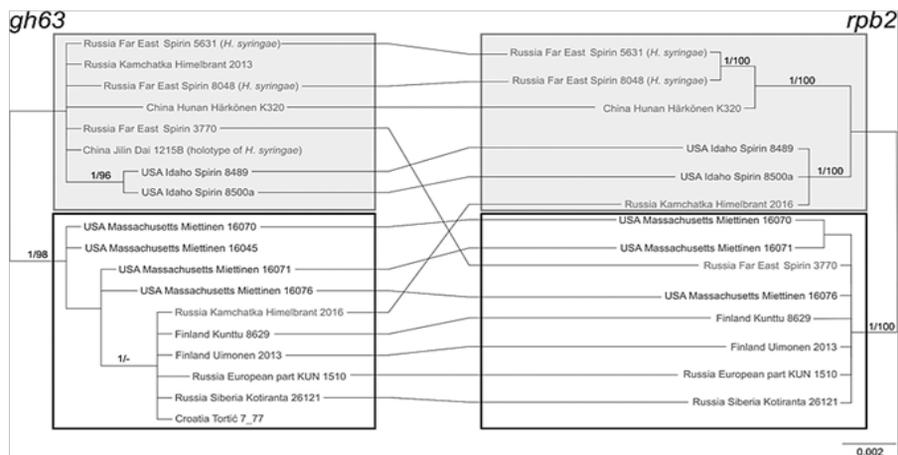
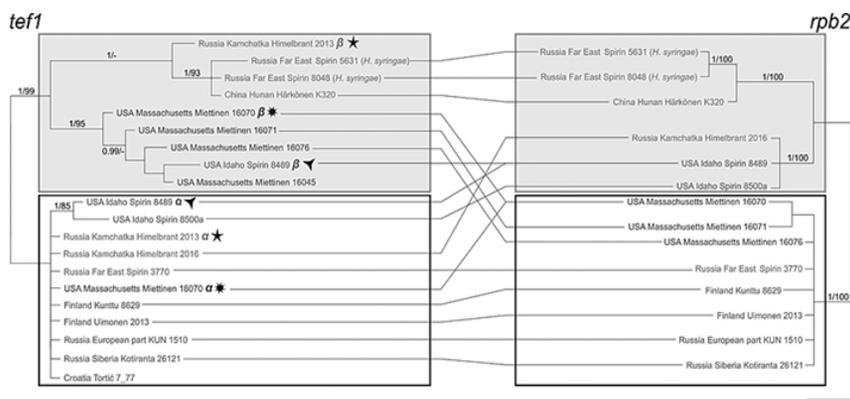


Рисунок 3. Различия в топологии филогенетических деревьев *gh63* и *tef1*, полученных в результате ВІ-анализа.Рисунок 4. Различия в топологии филогенетических деревьев *tef1* и *rpb2*, полученных в результате ВІ-анализа.

Топологии деревьев, построенных по протеин-кодирующим генам, соответствовали географическому распространению, что можно наблюдать по расхождению клад самого высокого уровня. Это указывает на то, что популяции были генетически изолированы ранее. И наоборот, почти идентичные последовательности наблюдались у нескольких географически удаленных образцов (рис. 2, 3 и 4).

Последовательности *B. radula* и *H. syringae* были разделены по дереву *gh63* на трансберингийскую и голарктическую клады (рис. 2 и 3). Евразийская подклада состоит из последовательностей, различающихся не более чем на одну п.н. Это свидетельствует о потоке генов между евразийскими образцами.

Дерево по гену *rpb2*, как и *gh63*, было разделено на трансберингийские и голарктические клады, но расположение видов внутри клад различно (рис. 2). Филогенетически трансберингийская кладка была далее разделена на азиатскую группу умеренно-тропического климата, к которой принадлежал *H. syringae*, и западно-американско-камчатскую группу, образцы которой имели идентичные последовательности (рис. 2 и 4).

В дереве по гену *tef1* было две клады, которые отличались от предыдущего расположения видов (рис. 3 и 4). Обе клады включали образцы из Азии и Северной Америки, но европейские присутствовали только в одной кладе. Как и в случае с другими локусами, отсутствие вариаций в длине ветвей указывает на то, что многие географически удаленные экземпляры были генетически близки.

В настоящем исследовании мы определили, что ДНК маркеры у *B. radula* соответствуют географическому происхождению, это означает, что история генетической изоляции в дивергентных популяциях достаточна для на-

копления различий. Мы также показали, что последовательности образцов из одного региона часто принадлежат к разным группам гаплотипов. Такая закономерность может быть результатом неполного расхождения линий у недавно появившихся видов. Однако, были также обнаружены явные признаки потока генов между популяциями, что говорит в пользу интерпретации исследуемого материала как одного вида.

Например, образец Miettinen 16070 из Массачусетса полиморфен по гену *tef1* и имеет α-гаплотип, практически идентичный евразийским. В то же время β-гаплотип Miettinen 16070 кластеризуется с другими американскими последовательностями. Интерпретация этого явления как неполного расхождения линий предполагает, что североамериканский гаплотип Miettinen 16070 α и евразийские гаплотипы *tef1* были независимо унаследованы от предковой популяции до дивергенции. Но для этого гаплотипы должны были накопить достаточно различий, чтобы в образовавшейся кладе наблюдались какие-то структурные изменения, например, изменение в длине ветвей или дальнейшее разделение клад по географическому признаку. Поскольку этого не наблюдается, в данном случае мы интерпретируем две различные группы гаплотипов у Miettinen 16070 как результат гибридизации. Аналогично, поток генов объясняет и результаты, полученные по другим полиморфным образцам. Таким образом, нами был сделан вывод о принадлежности *H. syringae* к виду *B. radula* (Viner et al., 2021).

Поскольку явление несоответствий топологий генных деревьев и наличия гетерозиготных аллелей у базидиомицетов не редкость, неправильный выбор маркера в сочетании с коротким фрагментом анализируемой последова-

тельности и небольшими выборками неизбежно приведет и к завышенным оценкам уровней дивергенции и в итоге – к необоснованной филогенетической и таксономической схеме.

Тем не менее, фактическое количество маркеров, необходимое для определения вида в таких случаях, зависит от размера популяции, скорости эволюции молекулярного маркера в исследуемой группе, и, таким образом, различается в каждом конкретном случае. Основываясь на наших результатах, мы предлагаем проводить первоначальный анализ на несоответствие между филогениями трех несвязанных ДНК маркеров на наборе географически удаленных образцов.

Работа Кокаевой Л.Ю. поддержана грантом Министерства науки и высшего образования РФ «Анализ микробио-

мов растений и беспозвоночных животных экстремальных мест обитания с целью разработки штаммов-продуцентов новых метаболитов и ферментов» № 075-15-2021-1396

Список литературы

1. Viner I., Kokaeva L., Spirin V., & Miettinen O. (2021). Significance of incongruent DNA loci in the taxonomy of wood-decaying *Basidioreadulum radula*. *Mycologia*, 113(5): 995–1008. <https://doi.org/10.1080/00275514.2021.1930449>

РОЛЬ ГЕНОФОНДА ГОСУДАРСТВЕННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ВНИИ ФИТОПАТОЛОГИИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Коломиец Т.М., Жемчужина Н.С., Киселева М.И., Пахолкова Е.В., Панкратова Л.Ф., Глинушкин А.П.
Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии (ВНИИФ)
р.п. Большие Вяземы, Московская обл.

Государственная коллекция фитопатогенных микроорганизмов ВНИИФ уникальна. В настоящее время ГКФМ ВНИИФ, как и большинство мировых коллекций – это банк биоразнообразия фитопатогенного комплекса основных стратегически важных культур, хранящий большой объем информации. Она насчитывает около 5000 штаммов наиболее опасных возбудителей болезней, причиняющих большой ущерб сельскому хозяйству. К числу болезней, вызывающих наиболее вредоносные эпифитотии на зерновых культурах, относятся: бурая и стеблевая ржавчина, септориоз, фузариозы, пирикуляриоз, на картофеле – фитофтороз и др. Широко представлены в коллекции штаммы бактериальных фитопатогенов, относящихся к 34 видам, паразитирующим на зерновых, картофеле, овощных, масличных и других культурах. К ним относятся бактерии из родов *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Ralstonia*, *Clavibacter*, *Pantoe*. ВНИИФ обладает единственным в Российской Федерации депозитарием с уникальной коллекцией виридов.

В соответствии с Федеральным Законом от 10.01.02 г. №7-ФЗ (ред. от 24.11.2014, с изм. от 29.12.2014) «Об охране окружающей среды», Постановлением Правительства РФ от 24.06.1996 г. №725-47 коллекция фитопатогенных микроорганизмов и сортов растений - идентификаторов патогенных штаммов микроорганизмов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии» получила статус Государственной (1, 2).

Коллекционные штаммы возбудителей болезней отличаются высоким полиморфизмом морфолого-культуральных свойств, разным уровнем патогенности, токсичности, количеством и сочетанием генов вирулентности.

Государственная коллекция фитопатогенных микроорганизмов – результат изучения биологии, экологии и генетики возбудителей наиболее опасных болезней пшеницы, ржи, ячменя, овса, риса и картофеля на территории России и стран СНГ, а также способов длительного хранения фитопатогенов в жизнеспособном состоянии без потери патогенных свойств.

Известно, что многие виды грибов, относящиеся к факультативным сапрофитам и факультативным паразитам,

в период колонизации тканей хозяев образуют специфические метаболиты, способствующие лучшему усвоению микромицетами питательных веществ из растений. Накопление таких метаболитов приводит не только к ухудшению качества урожая культурных растений, но и к более глубоким последствиям при использовании такой продукции в животноводстве и пищевой промышленности.

В Государственной коллекции фитопатогенных микроорганизмов (ГКФМ) ВНИИФ на длительном хранении находятся грибы, поражающие сельскохозяйственные растения и способные к образованию ядовитых токсинов, опасных для животных и человека, вызывающие микозы и микотоксикозы теплокровных. Среди них грибы из родов *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Cochliobolus*, *Acremonium*, *Trichoderma*, *Trichotecium* (3). Из возбудителей аспергиллезов в коллекции хранятся виды *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. alliaceus*, *A. fumigatus*, *A. glaucus*, *A. ustus*, *A. versicolor*, приводящие к поражению легких, бронхов, роговицы глаз, ушей, мочеполовых и других органов. Микозы у людей вызывают и виды пенициллов, имеющиеся в ГКФМ. Среди них: *Penicillium aurantiogriseum*, *P. brevicompactum*, *P. canescens*, *P. digitatum*, *P. expansum*, *P. hirsutum*, *P. janczewskii*, *P. solitum*. При пенициллиозах поражается кожа, ногти, уши, верхние дыхательные пути и легкие (псевдотуберкулез). Кроме того, они обуславливают образование очагов генерализованной инфекции во внутренних органах, вызывают рак печени (4).

Микотоксины являются одними из основных загрязнителей продукции сельского хозяйства, приводящими к хроническим токсикозам организма. В настоящее время известно более 400 видов микотоксинов. Среди микотоксинов, представляющих опасность для здоровья человека и животных, наиболее распространенными являются афлатоксины, трихотеценовые микотоксины, охратоксины, пагулин, зеараленон и зеараленол. В Коллекции хранятся фитопатогенные грибы – продуценты большинства названных микотоксинов. Среди них грибы рода *Aspergillus* – продуценты афлатоксинов, 14 видов (более 250 штаммов) грибов рода *Fusarium* – продуцентов трихотеценов, зеараленона и зеараленола, грибы рода *Penicillium* – продуценты охратоксина А, пагулина и другие, обладающие канцеро-

генным, мутагенным, тератогенным, эмбриотоксическим, аллергическим, иммуносупрессивным действиями, а также способностью снижать резистентность организма к инфекционным и неинфекционным заболеваниям (5).

На основе фитопатологических тестов с использованием сортов-дифференциаторов коллекция стабилизирована, охарактеризована по культурально-морфологическим признакам, количественному и качественному составу генов вирулентности и авирулентности (6, 7, 8, 9). Коллекция возбудителя пирикулярриоза риса при помощи микросателлитных маркеров описана по уровню генетической варибельности, составлены генетические карты штаммов.

Коллекционные культуры патогенов представляют большой научно-практический интерес и могут служить источником информации в фундаментальных научных молекулярно-генетических исследованиях для решения задач популяционной генетики, таксономии, систематики, идентификации и т.д. Для обеспечения научных популяционно-генетических исследований и прикладного использования в иммунологических, токсикологических и селекционно-генетических разработках опережающей селекции на иммунитет к вредным организмам необходима коллекция живых рас, штаммов, патотипов с определенным набором стабильных свойств.

С целью предотвращения потерь урожая сельскохозяйственных культур от наиболее опасных и экономически значимых патогенных организмов необходимо не только проводить контроль генофонда вирулентности, но и изучать характер изменчивости патогенов, определять потенциальную возможность появления новых генов и рас, возможно опасных, в разных популяциях.

Создание централизованного Государственного генетического банка фитопатогенных микроорганизмов позволяет научно-обоснованно формировать составы жестких искусственных инфекционных фонов для оценки устойчивых образцов на всех этапах селекционного процесса, ускорить селекцию устойчивых высокоурожайных сортов, получать экологически чистую продукцию и стабилизировать сельскохозяйственное производство (7, 8).

Полученные из-за рубежа патотипы возбудителей наиболее опасных болезней используются в опережающей селекции для обеспечения генетической защиты сортам зерновых культур и, следовательно, продовольственной безопасности страны в случае применения биологического оружия.

Знание генетической природы устойчивости к возбудителям болезней, определение генов, характер их наследования и взаимодействия имеет большое значение в селекции на иммунитет. Метод фитопатологического тестирования позволяет предположить наличие в сортах генов устойчивости и их сочетаний без гибридологического анализа. В ГКФМ ВНИИФ на депонировании находятся маркерные тест-культуры возбудителей бурой ржавчины пшеницы, пирикулярриоза риса и фитофтороза картофеля для определения генотипа устойчивости у сортов стратегически важных культур.

Использование маркированных штаммов и патотипов фитопатогенов позволяет решать многие фундаментальные вопросы при изучении молекулярно-генетических и биохимических взаимодействий в системе "культурное растение – патогенный микроорганизм", в том числе при идентификации эффективных генов устойчивости и определении их молекулярных маркеров.

Развитие биотехнологий в мире позволяет в короткие сроки получать патогены с неизвестными ранее свойствами, генетически модифицированные и измененные. Их

распространение на территории Российской Федерации может приводить к эпифитотиям даже в тех отраслях растениеводства, в которых уже выработаны традиционные способы и методы борьбы с ними. Для вычленения вновь образованных штаммов патогенов, установления их отличий от «традиционных» необходим паспортизованный набор штаммов с известными свойствами, хранящихся в Государственной коллекции фитопатогенов..

В результате популяционных исследований фитопатогенов в различных регионах РФ коллекция ежегодно пополняется новым биоматериалом. Повышение эффективности учета и контроля позволяет выявлять новые штаммы микроорганизмов и прогнозировать их возможное появление.

Государственная коллекция фитопатогенных микроорганизмов и сортов растений-идентификаторов патогенных штаммов микроорганизмов оборудована современными приборами для их хранения и поддержания в жизнеспособном состоянии. В ГКФМ применяются современные методы хранения биоматериала, включая криоконсервацию и лиофилизацию, с систематической проверкой жизнеспособности, патогенности, фитотоксичности и вирулентности штаммов микроорганизмов.

Список литературы

1. Дубовой В.П., Жемчужина Н., Елизарова С., Горелов П. Государственная коллекция фитопатогенных микроорганизмов ВНИИФ // Аналитика. 2016; 1: 76-78. eLIBRARY ID: 25623093, ISSN: 2227-572X, eISSN: 2687-1351.
2. Kolomiets T., Zhemchuzhina N. Genetic resources of the State Collection of Phytopathogenic Microorganisms of the All-Russian Research Institute of Phytopathology (ARRIP). In: Conference proceedings of XXXVII Annual Meeting of the European Culture Collection Organisation, Moscow, 13-15 September 2018; 45-46. DOI: 10.18699/PlantGen2019-002.
3. Коломиец Т.М., Жемчужина Н.С., Панкратова Л.Ф., Александрова А.В., Киселева М.И., Елизарова С.А. Микромитеты Государственной коллекции фитопатогенных микроорганизмов, вызывающие микозы и микотоксикозы человека и животных. В: Успехи медицинской микологии. М., 2018; 19: 371-372. eLIBRARY ID: 35094162, ISSN: 2310-9467.
4. Pinto V.E.F., Patriarca A. Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols / Eds. A. Moretti, A. Susca. NY: Springer Science+Business Media LLC, 2017. 379 p.
5. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М. Современное состояние таксономии грибов рода *Fusarium* секции *Sporotrichiella* // Микология и фитопатология. 2008; 42 (3): 201-214. ISSN: 0026-3648, eLIBRARY ID: 11646320.
6. Билай В. И., Элланская И.А. Основные микологические методы в фитопатологии. В кн.: Методы экспериментальной микологии. Справочник; под ред. В.И. Билай. Киев, Наукова думка, 1982; 418-431.
7. Коломиец Т.М., Пахолкова Е.В., Дубовая Л.П. Отбор исходного материала для создания сортов пшеницы с длительной устойчивостью к септориозу. Методические рекомендации. - М.: Печатный город. – 2017. - 56 с.
8. Коваленко Е.Д., Коломиец Т.М., Киселева М.И., Жемчужина А.И., Смирнова Л.А., Щербик А.А. Методы оценки и отбора исходного материала при создании сортов пшеницы устойчивых к бурой ржавчине. - М.: РС дизайн. - 2012. - 93 с.

9. Long D.L. and Kolmer J.A. A North American system of Nomenclature for *Puccinia recondita* f. sp. *Triticici* //

Phytopathology. - 1989. - 79. - P. 525-529.

ДОСТИЖЕНИЯ В МИКОЛОГИИ В НАЧАЛЕ XXI ВЕКА

Кураков А.В.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет

Рассматриваются достижения в микологии в первые два десятилетия XXI века.

Успехи в секвенировании ДНК грибов обеспечило прорыв в выявлении родственных связей между представителями разных таксонов. Анализ и обобщение данных геномных исследований и ранее накопленной информации позволили создать естественную систему грибного царства на уровне порядков (Hibbert et al., 2007). За прошедший после этого период в 15 лет предложенная система грибов претерпела не одно уточнение как на уровне семейств, порядков, классов и даже отделов, но принципиально не изменилась. Но задача по её уточнению остается, для чего идет активное секвенирование геномов по крайней мере у представителей 2 видов от каждого семейства, и программы нацеленные на это существуют (Fungal Genomes Initiative, 1000 Fungal Genomes and Mycorrhizal Genome Initiative, (сиквенсы доступны онлайн JGI Myco Cosm).

Полногеномные сиквенсы к настоящему времени имеются для многих фитопатогенов (500-ти видов), для более 100 видов патогенов, в том числе 10 инвазивных видов, таких как *Pneumocystis jirovecii*, вызывающего пневмонию с высокой летальностью (до 80%) у пациентов с ослабленным иммунитетом. Планируется секвенирование не менее чем, по 25 представителей видов разных эколого-трофических групп - микоризных, энтомопатогенов, нематофаговых грибов, экстремофилов и других. Знания об основных генах и метаболических путях неоценимы для разработки эффективных методов лечения грибных заболеваний, поиска новых антибиотиков и других биологически активных соединений, потенциально способных стать новыми фармацевтическими препаратами.

Получены данные об более раннем происхождении грибов и уточнена их эволюция. Стало возможным, благодаря расчетам методом молекулярных часов, палеонтологическим находкам и знанию физико-химических условий в разные геологические периоды на Земле полагать, что зооспоровые грибы существовали мировом океане и водоемах уже 1,2 - 1,5 млрд. лет назад. Переход грибов от водного к наземному образу жизни происходил около 700 млн. лет назад. Первые грибы, у которых отсутствуют подвижные споры, и образуются уникальные толсто-стенные зигоспоры (половые споры), относятся к отделам Zoopogonmycota (патогены и комменсалы), Mucoromycota (сапротрофы, а также эндомикоризообразователи подотдела Glomeromycotina и эктомикоризные порядка Endogonales). Грибы, способные образовывать сложные спорообразующие структуры (отделов Ascomycota и Basidiomycota) появляются 600-700 млн. лет назад.

Грибы одни из самых разнообразных организмов современной биосферы. В настоящее время известно 140 тысяч видов. Существует несколько подходов для расчетов потенциального видового разнообразия грибов на нашей планете, и согласно им число видов грибных организмов около 1 млн., а скорее 4-5 млн.. И хотя ежегодно обнаруживают и описывают около 2000 новых

видов, подавляющее их большинство (более 90-97%) остаются нам неизвестными.

Фундаментально новые данные получены о разнообразии некультивируемых видов грибов. Многие из них принадлежат к зооспоровым грибным организмам, в частности, представителям Cryptomycota, Neocallimastomycota, но обнаружены также и среди – Glomeromycotina и, высших грибов (в классе Archirhizomycetes и других).

Имеются успехи в выявлении новых видов в тропиках, регионах высоких широт, глубоководных, щелочных и засоленных местообитаний. Это существенно расширило наши представления о границах существования и экологии грибов. Исследования в этом направлении остаются перспективными, так как обширные территории, многие экстремальные экотопы, подземные грунты и воды, грибы, огромное число растений и животных остаются неизученными в отношении их грибных обитателей и ассоциантов.

Новые данные получены о механизмах адаптации и жизнедеятельности грибов при повышенном уровне радиации, гипоксии, других стрессовых воздействиях, роли эндوفитных грибов в стрессоустойчивости растений (ссылка). Расшифрован механизм диссимиляторного восстановления нитратов в закись азота (грибная денитрификация) и - нитратов в аммоний. Предстоит определить каков вклад грибов в эмиссию парникового газа - закиси азота в атмосферу.

Приведенные выше успехи были обусловлены в основном логикой развития самой науки. Но прикладной микологии, грибным биотехнологиям принадлежит важная роль в противостоянии глобальным вызовам, стоящим перед человечеством – борьбе с болезнями, загрязнениями, нехваткой пищи и кормов, изменением климата. В докладе будут приведены примеры разработок с использованием грибов для биоиндустрии, получении ферментов с новыми свойствами, биологически активных соединений, продуктов питания, грибных препаратов для растениеводства, животноводства, биоремедиации.

О ПРИЛОЖЕНИЯХ ОПТИЧЕСКОГО МЕТОДА АНАЛИЗА АЭРОДИСПЕРСНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ И СОРТИРОВКИ СПОР: ОТ СЧЁТА ЧАСТИЦ ДО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ И КЛАССИФИКАЦИИ СПОР В ЗАДАЧАХ МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКОЙ ТАКСОНОМИИ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЙ СИСТЕМАТИКИ

Макавеев П.Ю.^{1,2,3}, Градов О.В.¹, Жуланов Ю.В.^{2,3}

¹ ФИЦ ХФ РАН им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

² ИФА РАН им. А. М. Обухова РАН, Москва

³ НИФХИ им. Л. Я. Карпова, Москва

Применение методов цитометрии для анализа спор хорошо известно с конца 1980-х – начала 1990-х гг. [1], причём уже с начала 1990-х гг. для анализа видовой принадлежности спор использовались прогрессивные алгоритмы многомерной кластеризации и экспертные системы и нейросети (например, при идентификации спор аско- и базидиомицетов [2,3]). Техника, обеспечивающая идентификацию и сортировку спор, как правило, базировалась на FACS-подходах, в силу чего требовала окрашивания пробы. Это требование является, в большинстве случаев (исключая т.н. имэджинговую цитометрию с анализом видеопотока) актуальным и в настоящее время [4]. В силу этого акценты делаются не на анализе формы и физических свойств спор, а на содержании в них веществ, окрашивающихся отличными по селективности красителями / метками. В особенности надо отметить радиометрические методы окрашивания и флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH). Вследствие этого, за последние три десятилетия вышло немало работ по анализу содержания компонент спор – таких, как ДНК (вплоть до полногеномного масштаба [5]) и белки [6,7]. Но по физическим и геометрическим свойствам спор, как правило, выходят лишь работы по «имэджинговой» цитометрии, а ряд методов – таких, как сканирующая проточная цитометрия – фактически не применялись для анализа микологических объектов как таковых. Нехватка информации о геометрии спор может устраняться сопряжением проточной цитометрии и сканирующей электронной микроскопии, в том числе – иммуноэлектронной микроскопии [8,9], однако в большинстве случаев (исключая экзотические техники ESEM – сканирующей электронной микроскопии с программируемой средой [10]) она приводит к необратимой дегидратации-денатурации цитоплазмы при эвакуации колонны СЭМ и пробоподготовке (с напылением, как правило, на вакуумном poste или ионно-плазменном источнике Ag, Pt, Pt-Pd, etc.). Как следует из изложенного, прямой *in situ* анализ содержания спор в атмосфере невозможен в обычной проточной цитометрии.

Учитывая, что размеры спор грибов составляют от единиц до сотни с лишним мкм, в принципе, крайне трудно создать эффективную систему фокусировки для сортера спор. В силу существенного различия размеров и массы спор как акустическая и акустофлюидная схема, так и электростатическая схема, используемые обычно [11], могут быть фактически неэффективными. Это ставит на передний план оптимизацию параметров цитометрии – не только по дескрипторам идентификации, но и по инструментальной имплементации схем / техпроцессов сортировки [12], что является задачей недифференцируемой оптимизации либо поиска локальных оптимумов. Если видовой выборка будет варьироваться в ходе сортировки и непрерывного отбора пробы (что неизбежно имеет место при отборе проб из атмосферы без предварительной фильтрации), то параметры адаптивно подстраивающегося прибора / программно-аппаратного комплекса для анализа спор также будут

варьироваться, что, при прочих равных, неизбежно будет являться источником затруднений при обработке данных и интерпретации, которую нужно будет проводить с учётом метаданных статистики (как в фотонных корреляционных спектрометрах типа дзета-сайзеров). Между тем, отбор пробы из атмосферы является самоочевидным напрашивающимся решением, если речь идёт, как обычно в аэробиологии и атмосферной экологии, об анализе спор *in situ* / непосредственно в биогеоэкологических условиях, какие свойственны данному комплексу видов, известным экологическим нишам [13,14]. Поэтому нами предлагается внедрение прямых методов для проточного аэрозольно-оптического анализа спор, основанных на классических методах и технологиях анализа аэродисперсных систем, созданных под руководством академика АН СССР И.В. Соколова-Петрянова [15] и использовавшихся вплоть до анализа космических, [экзо-]планетарных аэрозолей («аэрозоль»), в частности на Венере [16]. Данный подход, в частности, позволяет не только сепарировать состав спорных аэрозолей, но и проводить анализ их физико-химического состава (при определенной инструментальной доработке и модификации). Согласно классической работе [15], «...открывается возможность не только ... дисперсного анализа аэрозолей, но и осуществления анализа аэродисперсных систем по физико-химическому составу», «одновременное измерение амплитуды и размера ... частиц ... создает возможность для классификации их по коэффициенту преломления, [то есть] по физико-химическому составу». При этом размеры биологических частиц, исследуемых на установках, идеология которых была заложена при академике Соколове-Петрянове, могут существенно варьировать (от вирусов до бластомеров [17-19]). Это позволяет не изменять, в отличие от многих лабораторных цитометров, настройки робастного полевого прибора / мобильного программно-аппаратного комплекса, обеспечивая объективный и стабильный анализ спор. В отличие от классических проточных цитометров, являющихся проточными цитофлуориметрами и проточными цитосчётчиками (по выражению проф. В.П. Мальцева – автора метода сканирующей проточной цитометрии из СО РАН), «рефрактометрические анализаторы собственных свойств спор» на вышеуказанном принципе, являются строгими (калибруемыми по латексам и независимыми от состояния красителя) метрологическими / робастными мониторинговыми приборами, которые могут быть рекомендованы микологу, не обладающему достаточными средствами и компетенциями для молекулярного анализа, для работы в полевых условиях.

Список литературы

1. Allman R. Characterisation of fungal spores using flow cytometry // *Mycological Research*. – 1992. – V. 96. – Iss. 12. – P. 1016-1018.

2. Morris C. W., Boddy L., Allman R. Identification of basidiomycete spores by neural network analysis of flow cytometry data // *Mycological Research*. – 1992. – V. 96. – Iss. 8. – P. 697-701.
3. Morgan A., Boddy L., Mordue J.E.M., Morris C.W. Evaluation of artificial neural networks for fungal identification, employing morphometric data from spores of *Pestalotiopsis* species // *Mycological Research*. – 1998. – V. 102. – Iss. 8. – P. 975-984.
4. Wen G., Cao R., Wan Q., Tan L., Xu X., Wang J., Huang T. Development of fungal spore staining methods for flow cytometric quantification and their application in chlorine-based disinfection // *Chemosphere*. – 2020. – V. 243. – P. 125453.
5. Kuo L.Y., Huang Y.J., Chang J., Chiou W.L., Huang Y.M. Evaluating the spore genome sizes of ferns and lycophytes: a flow cytometry approach // *New Phytologist*. – 2017. – V. 213. – Iss. 4. – P. 1974-1983.
6. Eilam T., Bushnell W.R., Oschry Y., Anikster Y. Nuclear DNA content in spores of rust fungi as measured by flow cytometry and by light microscope photometry // *Vortraege fuer Pflanzenzuechtung (Germany)*. – 1992. – V. 24. – P. 16-18.
7. Kullman B., Greve B. Diversity of DNA and protein contents of spores of the closely related oyster fungi *Pleurotus pulmonarius* and *P. ostreatus* as studied by flow cytometry // *Folia Cryptogamica Estonica*. – 2007. – V. 43. – P. 17-21.
8. Hardham A.R., Suzuki E. Glycoconjugates on the surface of spores of the pathogenic fungus *Phytophthora cinnamomi* studied using fluorescence and electron microscopy and flow cytometry // *Canadian Journal of Microbiology*. – 1990. – V. 36. – Iss. 3. – P. 183-192.
9. Rydjord B., Namork E., Nygaard U.C., Wiker H.G., Hetland G. Quantification and characterisation of IgG binding to mould spores by flow cytometry and scanning electron microscopy // *Journal of Immunological Methods*. – 2007. – V. 323. – Iss. 2. – P. 123-131.
10. Градов О. В., Градова М. А. Методы электронной микроскопии биологических и абиогенных структур в искусственных газовых атмосферах // *Электронная обработка материалов*. — 2016. — Т. 52, № 1. — С. 117-126.
11. Kron P., Loureiro J., Castro S., Čertner M. Flow cytometric analysis of pollen and spores: An overview of applications and methodology // *Cytometry Part A*. – 2021. – V. 99. – Iss. 4. – P. 348-358.
12. Mathis H., Margeot A., Bouix M. Optimization of flow cytometry parameters for high-throughput screening of spores of the filamentous fungus *Trichoderma reesei* // *Journal of Biotechnology*. – 2020. – V. 321. – P. 78-86.
13. Liang L., Engling G., Cheng Y., Duan F., Du Z., He K. Rapid detection and quantification of fungal spores in the urban atmosphere by flow cytometry // *Journal of Aerosol Science*. – 2013. – V. 66. – P. 179-186.
14. Gunasekera T. S., Attfield P. V., Veal D. A. A flow cytometry method for rapid detection and enumeration of fungal spores in the atmosphere // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2000. – V. 66. – Iss. 3. – P. 1228-1232.
15. Жуланов Ю. В., Садовский Б. Ф., Петрянов И. В. О возможностях оптического метода анализа аэродисперсных систем // *Доклады Академии наук СССР*. — 1978. — Т. 240, № 1. — С. 51-53.
16. Жуланов Ю.В., Мухин Л.М., Ненароков Д.Ф., Лушников А.А., Петрянов-Соколов И.В. Спектры размеров частиц облачного слоя атмосферы Венеры (эксперимент "Vera") // *Доклады Академии наук СССР*. — 1987. — Т. 295, № 1. — С. 67-70.
17. Градов О.В., Жуланов Ю.В., Макавеев П.Ю. К вопросу о возможности использования гидрозолевых спектрометров в эмбриометрии // *Гены и клетки*. — 2019. — Т. 14, № 3. — С. 78-79.
18. Градов О.В., Жуланов Ю.В., Макавеев П.Ю. Оптическая ультраструктурная вирометрия и ее ограничения // *Фотоника*. — 2020. — Т. 14, № 6. — С. 542-549.
19. Градов О.В., Жуланов Ю.В., Макавеев П.Ю. Оптическая ультраструктурная вирометрия с использованием оптико-электронных аэрозольных счетчиков, а также лазерных аэрозольных спектрометров: возможна ли корректная постановка проблемы? // *Наносистемы, наноматериалы, нанотехнологии*. – 2021. – Т. 19, № 3. – С. 487-512.

ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ИЗОЛЯТОВ *MICRODOCHIUM NIVALE*

Мещеров А.Р., Гоголева О.А., Мурзагулова Г.Ш., Сахабутдинов И.Т., Рязанов Е.А., Осипова Е.В., Пономарева М.Л., Пономарев С.Н., Горшков В.Ю.

Казанский институт биохимии и биофизики

Microdochium nivale – это психротолерантный фитопатогенный аскомицет, вызывающий целый ряд заболеваний у растений (розовая снежная плесень, прикорневая гниль, пятнистость листьев или парша колоса). *M. nivale* является полифагом и колонизирует широкий спектр растений-хозяев: пшеница, рожь, овес, ячмень, газонные и кормовые травы. Гриб способен поражать растения в течение всего периода произрастания, включая зиму, во время которой, патоген паразитирует на растениях, находящихся под снежным покровом. В отдельные годы ущерб, наносимый урожаю в результате эпифитотийного развития розовой снежной плесени, может превышать 50% от общего урожая. Розовая снежная плесень это прогрессирующее заболевание, активное распространение которой проявляется в последние десятилетия. Если раньше существенную

опасность снежная плесень представляла в основном в северных регионах, то сейчас вспышки этого заболевания возникают и на южных территориях. Несмотря на высокую вредоносность возбудителей этого заболевания, очень мало известно об их генетическом и фенотипическом разнообразии, в том числе, вирулентности, хозяйской специфичности и устойчивости к фунгицидам. В связи с этим целью нашего исследования было провести фенотипирование и генетипирование изолятов *Microdochium nivale*, собранных в рамках двух модельных агроценозов, различающихся почвенно-климатическими условиями.

Из растений озимых зерновых культур (рожь, пшеница и тритикале) с признаками поражения розовой снежной плесенью было выделено 157 изолятов, по морфологическим характеристикам отнесенных к *M. ni-*

vale. Для того, что подтвердить видовую принадлежность изолятов, а также оценить их генетическое разнообразие нами были определены нуклеотидные последовательности 3-х таксономически-информативных участков генома: внутреннего транскрибируемый спейсера 2 (ITS2), фактора элонгации 1-альфа (E F-1a) и гена бета-тубулина (Tub). В результате анализа нуклеотидных последовательностей мы обнаружили 2 варианта ITS2, 2 варианта EF-1a и 4 варианта Tub среди собранной нами коллекции изолятов *M. nivale*. Всего было найдено 12 вариантов комбинаций этих трех последовательностей среди всех изолятов. Таким образом, несмотря на то, что эти изоляты были выделены с одной территории, они обладают достаточно выраженным генетическим разнообразием. Фенотипическую оценку изолятов проводили на основании, измерения скорости роста колоний, оценки степени вирулентности и фунгицид-резистентности. В качестве тестовых фунгицидов нами были выбраны соединения, рекомендованные для борьбы со снежной плесенью, тебуконазол, карбендазим, азоксистробин. В результате анализа полученных данных, мы

разделили выделенные изоляты на 4 группы по степени вирулентности: сильно вирулентные (31), умеренно вирулентные (37), слабовирулентные (63) и авирулентные (27). С помощью скрининга на фунгицид-устойчивость мы выяснили, что собранные нами изоляты обладают разным уровнем чувствительности к тестируемым фунгицидным соединениям, при этом нами были выявлены такие изоляты, которые устойчивы ко всем трем фунгицидам. В настоящий момент нами проводится работа по выяснению возможной взаимосвязи между принадлежностью изолятов к той или иной генетической группе (определяемой по проанализированным нуклеотидным последовательностям) и фенотипическими признаками изолятов (скорость роста, степень вирулентности, фунгицид-устойчивость и растение-хозяин). По результатам такого масштабного фенотипического и генетического анализа изолятов *M. nivale*, мы можем оценить разнообразие этого фитопатогена и разработать более эффективные стратегии контроля вызываемых им заболеваний. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (грант № 075-15-2022-251).

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ШТАММОВ ASPERGILLUS SPP. СЕКЦИИ NIGRI НА КОМПОЗИЦИЮ ИХ MALDI-МАСС-СПЕКТРОВ

Рябинин И.А.

ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России (НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина; кафедра медицинской микробиологии), Санкт-Петербург

Введение. Микромицеты рода *Aspergillus* среди других мицелиальных грибов отличаются способностью вызывать наиболее широкий круг патологических состояний человека. Индийский миколог Рудрамурти Ш. (Shivaprakash M. Rudramurthy) с соавторами высказал предположение о вероятности наличия у аспергиллов, в-частности у *A. flavus*, различных генотипов внутри вида, которые ассоциированы с определенными вариантами инфекционных поражений. Для доказательства этой гипотезы авторы использовали технику внутривидового типирования по микросателлитам, выявили у клинических изолятов желтого аспергилла множество генотипов, но корреляции между ними и конкретными патологиями не оказалось [1]. В современной работе Эль-Каманд (Sam El-Kamand) и соавторы с той же целью применили полногеномное ДНК-секвенирование, и также не обнаружили различий между штаммами *A. fumigatus*, выделенными от пациентов с инвазивным аспергиллезом и с колонизацией дыхательных путей [2].

Вероятно, адаптация *Aspergillus spp.* к колонизации различных тканей и инвазии в них затрагивает процессы модификационной изменчивости, которые, как и многие другие процессы, отображаются в том числе перестройкой протеома. Выявить такие изменения позволяет MALDI-TOF-масс-спектрометрия.

Цель исследования: установить влияние избранных характеристик штаммов *A. niger* и родственных видов на композицию MALDI-масс-спектров экстрактов из их культур.

Материалы и методы. В исследование включили 36 штаммов *Aspergillus spp.* секции *Nigri* клинического происхождения, в том числе 30 штаммов *A. niger*; 3 штамма *A. awamori*; 2 штамма, относящихся по локусу внутреннего транскрибируемого спейсера к промежуточному генотипу «*A. niger/awamori*»; 1 – *A. tubingensis*; 11 – полученных

из отделяемого наружного слухового прохода; 24 – из биоматериалов при поражении нижних дыхательных путей (bronхоальвеолярный лаваж, бронхосмыв, мокрота); 1 – из промывных вод верхнечелюстной пазухи («внегрупповой»); 16 – полученных в примакультуре в 2005-2010 гг.; 19 – полученных в примакультуре в 2012-2015 гг.; 1 – в 1997 г. («внегрупповой»). Штаммы выделены от больных инвазивным аспергиллезом легких, аллергическим бронхолегочным аспергиллезом, муковисцидозом, диффузным неспецифическим пневмосклерозом, отомикозом.

Штаммы поддерживали в виде живых культур в серии пересевов на картофельно-морковном агаре. Субкультивирование штаммов на жидкой питательной среде, экстракцию белков и пептидов, а также съемку MALDI-масс-спектров выполнили, как описано ранее [3]. Для части штаммов по случайному выбору процедуру повторили несколько раз. В программном пакете MALDI Biotyper с базой масс-спектро-профилей Fungi Library провели реидентификацию штаммов согласно протоколу производителя [4], а затем – иерархическую кластеризацию: расчет дистанции по Минковскому, группировка по Уорду. Положение MALDI-масс-спектров штаммов в полученной дендрограмме сопоставили со следующими параметрами: видовая принадлежность штамма (*A. niger*, другие виды); локализация поражения у пациента (орган слуха, нижние дыхательные пути) и период получения примакультуры (2005-2010 гг.; 2012-2015 гг.). Для статистического анализа различий между группами MALDI-масс-спектров на дендрограмме приняли условные значения коэффициента дистанции, позволяющие рассматривать группы разного иерархического порядка (клады, суперклады, мегаклады). Различия по указанным признакам штаммов между мегакладами определяли путем расчета точного критерия Фишера, между клада-

ми и суперкладами — с помощью критерия χ^2 для таблиц произвольного вида.

Результаты. На подготовительном этапе работы для штаммов выполнили следующее количество масс-спектрометрических исследований: для 18 штаммов – однократно, для 4-х – двукратно; для 8-ми – троекратно; для 5-ти – четырехкратно; для 1 – пятикратно. Получили выборку из 75 MALDI-масс-спектров, все они идентифицируются программным обеспечением, как «*A. niger*». В построенной дендрограмме приняли значение коэффициента дистанции 1,1 для выделения мегаклад (всего 2); 1,0 для суперклад (всего 4) и 0,9 для клад (всего 6). Значения признаков штаммов, предложенных для сравнения групп масс-спектров, на дендрограмме распределяются диффузно, по представителям видов условной группы «*A. not-niger*» масс-спектры образуют группы не более, чем по два; масс-спектры от одного штамма могут оказаться в единой ветви, либо расположится несколько дистантно, а масс-спектры штаммов с конкретным периодом выделения культуры часто образывали крупные обособленные группы. При визуальном анализе увидели отчетливые различия между группами масс-спектров затруднительно, но возможно выделить некоторые яркие особенности: так, в кладу №4 входят масс-спектры преимущественно из штаммов *A. awamori* и «*A. niger/awamori*» и только полученные в период 2005-2010 гг., а клада №5 включает исключительно штаммы *A. niger*. Масс-спектры штаммов с «внегрупповыми» признаками не сформировали дистантных ветвей, а оказались включенными среди других масс-спектров в кладу №6.

При сравнении клад по сочетаниям характеристик штаммов оказалось, что различия междукладами статистически достоверны по сосредоточенным в них масс-спектрам различных видов аспергиллов, а также периодам получения примакультур (эмпирические значения χ^2 соответственно 13,54 и 19,615 при χ^2 -критическом 11,07; уровень значимости $p=0,05$), но недостоверны по признаку локализации патологического процесса (χ^2 -эмпирический 5,686). В отношении суперклад установили, что различия между ними имеются только по периодам получения примакультур штаммов (эмпирический χ^2 9,297; критический χ^2 7,815); но нет достоверных различий по видовому составу и области выделения штамма (χ^2 -эмпирические соответственно 0,822 и 3,361). Что касается мегаклад, то значимых различий между ними ни по одному из критериев сравнения не выявили: расчетные уровни значимости для признаков (1) видовая принадлежность, (2) период выделения и (3) локализация поражения составили соответственно 0,5927; 1,0 и 0,4699.

Заключение. MALDI-масс-спектр клеточного экстракта при заданных параметрах съемки отражает в-основном физико-химическое своеобразие секции Nigri, но не отдельных изученных видов этой секции. То есть в условиях получения биомассы для масс-спектрометрии представители изученных видов не имеют ярких физиологических различий.

Период получения примакультуры штамма, иначе – срок его коллекционного хранения, оказался наиболее значимым из рассматриваемых признаков, влияющих на композицию MALDI-масс-спектра. Данный феномен указывает на постепенную прогрессирующую перестройку метаболизма *Aspergillus spp.* (вероятно в сторону упроще-

ния) при длительном хранении в заданных условиях в виде живой культуры.

В модельной выборке штаммы *Aspergillus spp.* секции Nigri не проявляют достоверных физико-химических отличий в зависимости от локализации вызванного у человека поражения. Механизм этого явления может быть обусловлен тремя причинами: (1) среди представителей указанных видов аспергиллов изначально отсутствуют геновары, адаптированные для паразитического существования в определенных тканях; (2) при поддержании штаммов *in vitro* специфические биохимические особенности, связанные с адаптацией к конкретному органу, нивелируются; (3) у гипотетических «отопатогенного» и «респираторного» вариантов *A. niger* и сходных видов адаптивные биохимические акты могут не затрагивать белки и пептиды, участвующие в формировании MALDI-масс-спектров.

Ослабление влияния заданных характеристик штаммов на формирование групп масс-спектров при повышении уровня иерархии указывает на наличие более мощных биологических и/или технических параметров, отображающихся в MALDI-масс-спектре. Поиск таких свойств штаммов и масс-спектров является актуальной задачей будущих наблюдений.

Благодарности. Автор признателен заведующей Российской коллекцией патогенных грибов Г.А. Чилиной, сотрудникам кафедры медицинской микробиологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова доценту Т.С. Богомоловой и ассистенту О.Н. Пинегиной за предоставление штаммов и данных об источниках выделения, а также научному сотруднику НИЛ молекулярно-генетической микробиологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина Ю.В. Михайловой за переданные результаты экспертной идентификации штаммов методом таргетного ДНК-секвенирования.

Поддержка работы. Исследование выполнено в рамках темы Государственного задания Минздрава России «Молекулярно-генетические и иммунологические аспекты микозов легких, вызванных грибами рода *Aspergillus*. Фокус на адаптивный иммунный ответ и механизмы иммунной толерантности».

Список литературы

1. Rudramurthy S.M., de Valk H.A., Chakrabarti A., Meis J.F., Klaassen C.H. High resolution genotyping of clinical *Aspergillus flavus* isolates from India using microsatellites // PLoS One. 2011. V. 6, №1: e16086. doi: 10.1371/journal.pone.0016086.
2. El-Kamand S., Steiner M., Ramirez C., Halliday C., Chen S.C., Papanicolaou A., et al. Assessing Differences between Clinical Isolates of *Aspergillus fumigatus* from Cases of Proven Invasive Aspergillosis and Colonizing Isolates with Respect to Phenotype (Virulence in *Tenebrio molitor* Larvae) and Genotype // Pathogens. 2022. V. 11, №4: 428. doi: 10.3390/pathogens11040428.
3. Riabinin I.A. Polypeptides from *Aspergillus spp.* forming mass-spectra during MALDI-TOF-mass-spectrometry. Wu Lien-Teh Forum. The 3rd China-Russian International Conference on Microbiology, Immunology and Related Diseases (CRICMID 2016). September 1-6, 2016. Harbin, Beijing, 2016. p. 36-38.
4. MALDI Biotyper 3.1 User Manual. Revision 1 (May 2012). Bremen: Bruker Daltonics, 2012. 212 p.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПО ГЕНАМ *TEF-1A*, *EPL-1* И *TRI5* ШТАММОВ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ АНТРОПОГЕННО ЗАГРЯЗНЕННЫХ МЕСТ

Шеримбетов А.Г., Зайнитдинова Л.И.

Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент

Грибы рода *Trichoderma* широко известны как агенты биоконтроля важных грибковых фитопатогенов. Заселяясь в почву, они подавляют развитие многих фитопатогенных грибов за счет выделения специфических ферментов, антибиотиков и биологически активных веществ. Триходермы путем синтеза широкого спектра антибиотиков (глиотоксин, виридин, триходермин, сацукаллин и др.), а также путем прямого паразитирования и конкуренции за питательные вещества и пространство угнетают и вытесняют большинство фитопатогенов (Howell, 2003). Кроме того, контакт растений с грибами рода *Trichoderma*, инициируют в растении каскадообразное развитие защитных ответов, представляющих собой как локальные молекулярные события, так и системные биохимические и молекулярно-генетические процессы, которые модифицируют физиологический и иммунный статус растений и приводят к формированию индуцированной системной устойчивости (ISR). ISR является сложным многофакторным процессом,

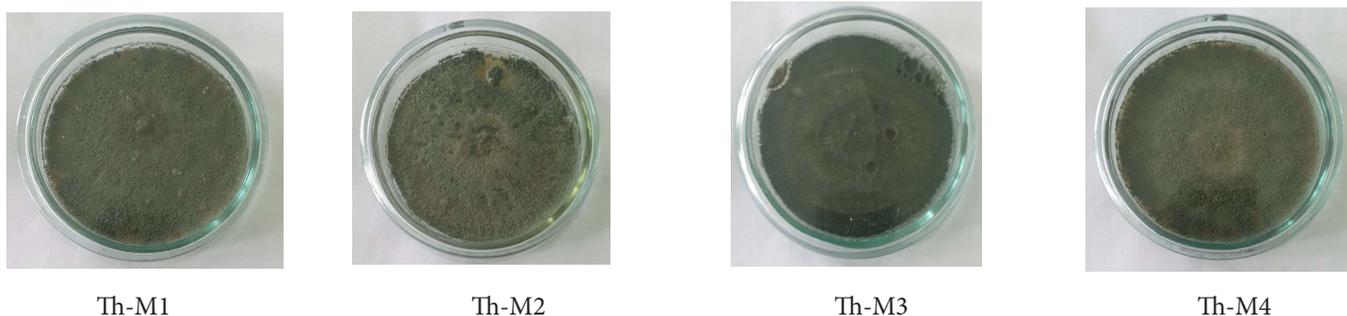
в котором участвуют множество биологически активных веществ (Ramírez-Valdespino et al., 2019). Недавние исследования показали, что ген *Epl-1* триходерм играет важную роль в этом процессе. Ген *Epl-1*, кодирует белок *Epl-1* принадлежащий к семейству церато-платанинов, которые представляют собой небольшие гидрофобные белки, обогащенные остатками цистеина, и индуцирует ISR в растениях (Gomes et al., 2015).

Целью данного исследования являлось молекулярно-генетическая характеристика некоторых местных штаммов по генам *Tef-1a*, *Epl-1* и *tri5*.

Объектом исследования являлись 4 штамма Т1, Т2, Т3, Т4 рода *Trichoderma*, выделенные при обследовании почв, имеющих антропогенные загрязнения на территории Бозсуйской станции аэрации (г.Ташкент).

На основании морфолого-культуральных признаков они были отнесены к роду *Trichoderma* (рис.1).

Рис.1. Рост исследованных штаммов р. *Trichoderma* на среде Чапека-Докса (7 суток).



Результаты амплификации участка гена *Tef-1α* после постановки электрофореза показали наличие ПЦР продукта ожидаемого размера во всех исследованных образ-

цах (рис.2). Эти результаты согласуются с тем, что исследуемые грибы относятся к филаментозным аскомицетам (*Ascomycota*).

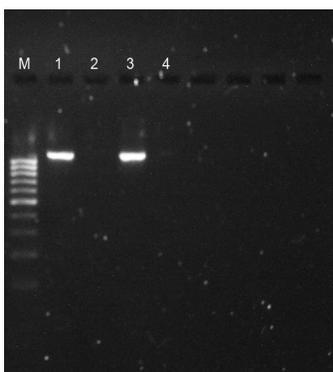
Рис.2. Электрофореграмма результатов амплификации *Tef-1α* (М- маркер молекулярного веса 100 -1000 п.н., 1-4 – ПЦР продукты *Tef-1α* полученные от 4 штаммов р. *Trichoderma*).



Электрофорез продуктов амплификации на ген *Epl-1* с праймерами *Epl-1_F* и *Epl-1_R* выявил наличие ПЦР про-

дукта размером выше 1000 п.н. в образцах Т1 и Т3 (рис.3).

Рис.3. Электрофореграмма результатов амплификации *Epl-1* (M- маркер молекулярного веса 100 -1000 п.н., 1-4 – ПЦР продукты *Epl-1* полученные от 4 изолятов *p. Trichoderma*).



Нами был проведен Биоинформатический анализ праймеров *Epl-1_F* и *Epl-1_R* с помощью программы BLAST на сайте Американского Национального Центра Биотехнологической Информации (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

BLAST/), который показал, что данные праймеры являются специфичными только для *Trichoderma harsianum* (рис.4,5).

Рис 4. Выравнивание нуклеотидных последовательностей (alignment) праймера *Epl-1_F* с соответствующими участками фланкирующих последовательностей гена *Epl-1* различных видов *Trichoderma* (звёздочкой отмечены совпадающие нуклеотиды, пробелом отмечены не совпадающие нуклеотиды).

```

TTGGCGATGGCTGGATACTACGAT - праймер Epl-1_F
TTGGCGATGGCTGGATACTACGAT - Trichoderma harsianum (100% совпадение)
*****
TTGGCGATGGATGGATAACCACGAT - Trichoderma atroviride
*****
TTGGCGATGGCTGGATACTACGAT - Trichoderma viride
*****
TTGGCGATGGGCTGGATGCTACGA - Trichoderma longibrachiatum
*****
TTGGCGATGGCTGGATACTACGAT - Trichoderma hamatum
***
TTGGCGATGGATGGATAACCACGAT - Trichoderma asperellum
*****
    
```

Рис 5. Выравнивание нуклеотидных последовательностей (alignment) праймера *Epl-1_R* (после преобразования нуклеотидной последовательности праймера в обратную комплементарную последовательность, (reverse complement sequence) с соответствующими участками фланкирующих последовательностей гена *Epl-1* различных видов *Trichoderma* (звёздочкой отмечены совпадающие нуклеотиды, пробелом отмечены не совпадающие нуклеотиды).

```

TCTTGTAAGCTGATCGACGTGGCA - праймер Epl-1_R
TTGGCGATGGCTGGATACTACGAT - Trichoderma harsianum (100% совпадение)
*****
CAATGTAAGCAGATCGACGTGGCC - Trichoderma atroviride
*****
TCTTGTAAGCTGATCGACGTGGCT - Trichoderma viride
*****
GTGGGTAAGCTGATCGACATGGAT - Trichoderma longibrachiatum
*****
CCTCGTAAGCAGATCGACGTGGCC - Trichoderma hamatum
**
CATTGTAAGCAGATCGACGTGGCC - Trichoderma asperellum
*****
    
```

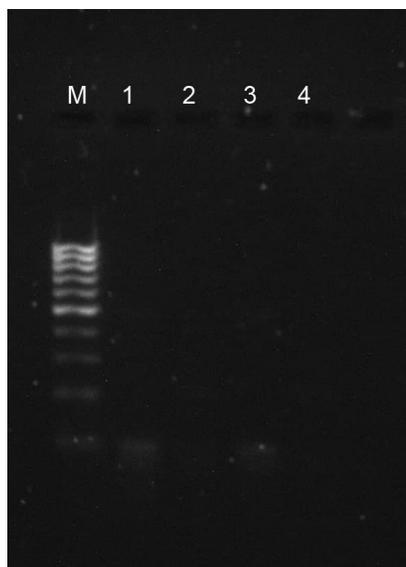
Следовательно, исследованные образцы T1 и T3 – по видовой принадлежности относятся к *Trichoderma harsianum* а также являются продуцентами белка *Epl-1*.

ПЦР с праймерами, специфичными для *tri5*, для предварительного скринингового анализа геномной ДНК исследуемых образцов *Trichoderma*, была проведена с целью тестирования наличия гена триходииенсинтазы в их геномах.

Результаты экспериментов по амплификации показаны на рис.6. Результаты электрофореза показали отсутствие ПЦР продукта во всех исследованных образцах что указывает на

отсутствие гена *tri5* у исследованных грибов, следовательно они являются штаммами не продуцирующими триходермин.

Рис.6. Электрофореграмма результатов амплификации *tri5* (М- маркер молекулярного веса 100 -1000 п.н., 1-4 – ПЦР продукты *tri5* от 4 штаммов триходермы).



Таким образом, результаты пилотного молекулярно-генетического исследования (генотипирования) штаммов *Trichoderma* по гену *Epl-1* указывают на то, что штаммы Т1 и Т3 относятся к *Trichoderma harzianum* и продуцируют церато-платаниновый белок *Epl-1*. Результаты генотипирования по гену *tri5* с целью тестирования наличия гена триходиенсинтазы, показали, что все исследованные 4 штамма *Trichoderma* не продуцируют триходермин. Отобранные штаммы Т1 и Т3 представляют интерес как продуценты биологически активного белка церато-платанина *Epl-1* и требуют дальнейшего исследования в плане структурно-функциональной геномики и филогенетики.

Список литературы

1. Howell C.R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts // *Plant. Dis.* – 2003. – Vol. 87. – P. 4-10
2. Ramírez-Valdespino C. A., Casas-Flores S., Olmedo-Monfil V. *Trichoderma* as a model to study effector-like molecules // *Frontiers in microbiology.* – 2019. – Т. 10. – С. 1030.
3. Gomes E.V., Costa, M., de Paula, R. et al. The Cerato-Platanin protein *Epl-1* from *Trichoderma harzianum* is involved in mycoparasitism, plant resistance induction and self cell wall protection // *Scientific reports.* – 2015. – Т. 5. – №. 1. – С. 1-13.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИИ ГРИБОВ

Шньрева А.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Грибы являются продуцентами многих биотехнологически значимых метаболитов – ферментов, аминокислот, антибиотиков, пигментов, веществ, используемых в биомедицине. Для увеличения продуктивности штаммов на протяжении длительного времени использовали мутагенез. Посредством индицирования мутаций изучали также механизмы патогенеза фитопатогенных грибов и возбудителей микозов. Однако, мутагенез не всегда был быстрым и эффективным методом модификации генов и изучения биологических процессов. Современный подход – это геномное редактирование, суть которого заключается в целенаправленном изменении генов и участков генома с помощью инженерных эндонуклеаз; это принципиально новая стратегия генетических манипуляций с живыми клетками и организмами. Существует три основных подхода направленной модификации геномов: с помощью цинк-зависимых нуклеаз (ZFN), эффекторных нуклеаз

(TALEN) и РНК-направляемых нуклеаз (CRISPR/Cas9 система); последняя – наиболее часто применяемая технология. Все три подхода преследуют цель внесения мутаций в целевые участки (сайты) генома за счет двойных разрывов ДНК и последующей активации молекулярного каскада системы репарации в клетке. Технология редактирования генома CRISPR/Cas для манипуляции функцией генов у грибов используется в течение последних 10 лет. Метод основан на CRISPR-ассоциированном белке – нуклеазе Cas9 из *Streptococcus pyogenes*, РНК-интерференции и репарации двунитевых разрывов ДНК. Фактически эта система была «позаимствована» (скопирована) непосредственно из природных естественных процессов, в отличие от нуклеаз ZFN и TALEN, которые создаются искусственным путем и поэтому называются синтетическими. Секвенирование бактериальных геномов позволило обнаружить в геноме многих микроорганизмов повторы ДНК характерной структу-

ры: короткие участки уникальных последовательностей – спейсеры, которые отделены друг от друга короткими палиндромными повторами; благодаря этой особенности они получили название CRISPR. Такие CRISPR-касеты находятся в непосредственной близости от *cas*-генов (CRISPR-associated), белковые продукты которых обладают хеликазной и нуклеазной активностями, то есть способностью «разрезать» 2-цепочечную молекулу ДНК. В 2007 г. было обнаружено, что спейсерная ДНК *Streptococcus thermophilus* гомологична ДНК бактериофагов, и что клетки бактерии, несущие в локусе CRISPR спейсер, комплементарный участку геномной ДНК бактериофага, становятся устойчивыми к этому фагу. Поэтому стало очевидным, что CRISPR-Cas система – уникальный механизм защиты микроорганизмов от проникновения чужеродной ДНК; своеобразная система адаптивного (приобретённого) иммунитета бактерий. CRISPR/Cas9 система состоит из Cas9 нуклеазы (*Streptococcus pyogenes*) и синтетической направляющей РНК (sgRNA), которая создается путем слияния CRISPR РНК (crRNA) и трансактивирующей РНК (tracrRNA); sgРНК связывается с Cas9 нуклеазой и направляет нуклеазу к локусу, который необходимо разрезать. Комплекс crРНК-tracrРНК-Cas9 распознаёт в редактируемом геноме целевые ДНК-мишени, комплементарные crРНК и содержащие специфический PAM-мотив (*protospacer adjacent motif*) по 3'-концу целевой последовательности, который необходим для узнавания Cas9 нуклеазой сайта-мишени. Произведенный Cas9-нуклеазой двунилевой разрыв репарируется или путем негомологичного соединения концов (*Non-homologous end joining, NHEJ*), или путем гомологичной рекомбинации (*Homologous recombination, HR*). При негомологичном соединении концов (NHEJ) в целевой сайт генома вносятся случайные делеции или инсерции. При гомологичной рекомбинации (HR) точная мутация вносится в целевой сайт генома с помощью донорной последовательности (матрицы), то есть сегмент геномной ДНК замещается на привнесенную гомологичную последовательность.

Общая стратегия геномной инженерии с помощью сайт-специфических нуклеаз состоит из четырех основных этапов (Wang, Coleman, 2019): 1) выбора целевой нуклеотидной последовательности; 2) создания плазмидной нуклеазной конструкции, которая способна экспрессировать рибонуклеопротеидный комплекс Cas9- sgРНК в грибной клетке и которая несет целевой ген (донорную ДНК для HR); 3) доставки этой конструкции в клеточное ядро (трансформации плазмиды в грибную клетку, для чего существует несколько способов); 4) анализа полученных мутаций. В редактировании грибных геномов часто используют мультиплексную систему редактирования, то есть создают sgРНК с несколькими протоспейсерами, что позволяет модифицировать сразу несколько участков генома: вносить делеции/инсерции или встраивать фрагменты ДНК с помощью гомологичной рекомбинации, а также активировать одновременно работу нескольких генов. Такая технология апробирована уже на многих модельных организмах, в том числе *Trichoderma reesei*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium chrysogenum*, *Myceliophthora thermophyla*, *Ustilago maydis*. Совершенствование технологии редактирования грибных геномов позволяет проводить точные эксперименты как в области функциональной геномики, а именно, для изучения функций отдельных генов и генных кластеров, их регуляции, путей биосинтеза различных веществ, так и в биотехнологии для решения широкого спектра задач. Можно проводить модификацию функции белков с целью расширения субстратной специфичности, улучшения каталитических свойств; проводить модификацию путей

биосинтеза с целью уменьшения токсичности метаболитов для поиска новых лекарств грибного происхождения (противоопухолевых, антимикробных). Можно активировать «молчащие» (и мало изученные) генные кластеры (информацию о которых получают от проектов полногеномного секвенирования) с целью обнаружения новых метаболитов. С помощью методов геномного редактирования можно «регулировать» экспрессию генов, причем этот подход более эффективен по сравнению с применением метода РНК-интерференции. Наконец, можно «управлять» патогенами, снижая их вирулентность, изучать механизмы патогенеза, а применительно к фитопатогенам эти исследования необходимы для защиты урожая сельскохозяйственных культур и для производства кормов. Можно проводить эксперименты по слиянию комплекса неактивной dCas9-sgРНК с флуоресцентными белками и изучать внутриклеточные процессы, такие как окислительный стресс, автофагия, апоптоз, процессы динамики хроматина.

В последние годы CRISPR система была успешно применена для получения сверхпродукторов ферментов, участвующих в биодеградации целлюлозы и в переработке отходов. Например, активность термостабильных целлюлаз *Myceliophthora thermophila* возросла в 5-13 раз у мутантов по четырем ключевым генам биосинтеза; были получены штаммы-рекомбинанты с повышенном уровне секреции целлюлаз и гемицеллюлаз у *Trichoderma reesei*. Модификацию генов поликетидсинтазы – ключевого фермента, участвующего синтезе вторичных метаболитов, провели для целого ряда биотехнологически значимых грибов, таких как *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium oxysporum*, *Talaromyces atrovirens*, *Phytophthora sojae*. У *Fusarium fujikuroi* – продуцента природных растительных фитогормонов, была успешно проведена мультиплексная модификация генов пути биосинтеза гибберелловых кислот (GA3, GA4, GA7); комбинацию этих продуктов биосинтеза предложено применять для промышленного производства гибберелловых кислот.

Эксперименты по редактированию геномов были осуществлены для целого ряда фитопатогенных грибов: *Fusarium oxysporum*, *Magnaporthe oryzae*, *Phytophthora spp.*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Ustilago maydis* и *U. trichospora*. Усилия исследователей в основном направлены на генетические модификации эффекторных белков, секретируемых патогенами в ткани хозяина и направленных на подавление иммунитета растений и стимулирование развития грибной инфекции. Так, у облигатного биотрофа *Ustilago maydis* делеции в 9 генах-эффекторах значительно снизили патогенность возбудителя. Подобный результат по воздействию на эффекторные белки был получен для энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana*, который используют как средство биологической борьбы с насекомыми. Мутагенез с использованием CRISPR-Cas как средство борьбы с инвазивными видами применяли для патогенов человека – *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Coccidioides immitis*. Мутации в генах фитоеновой дегидрогеназы *carB* и редуктазы *hmgR2* у возбудителя мукомороза *Mucor circinelloides*, который с трудом поддается противогрибковой терапии, приводили к снижению уровня эргостерола в клеточной мембране и снижению вирулентности гриба.

Грибы можно рассматривать как своеобразные производственные «клеточные фабрики» для производства ферментов и других веществ; при этом геномное редактирование у продуцентов является более эффективным подходом регуляции экспрессии генов по сравнению с применением метода РНК-интерференции. Например, подход позволяет проводить замену природного домена на гетерологичный,

заимствованный от другого организма, с целью получения химерного энзима с измененной субстратной специфичностью, а, следовательно, можно получить рекомбинантный штамм, способный производить новый метаболит. Так, была проведена модификация гена малатдегидрогеназы у возбудителя головни ежовника *Ustilago trichospora*, который используют в биотехнологии как продуцент органических дикарбоновых кислот для утилизации различных, в том числе и глицерин-содержащих отходов; была успешно проведена модификация генов α -глюкозидазы и глюкоамилазы у биотехнологически значимого вида *Aspergillus niger*. Геномное редактирование применяют также в селекции съедобных грибов – *Agaricus bisporus*, *Flammulina filiformis*, *Pleurotus ostreatus*. Например, у шампиньона *Agaricus bisporus* нокаутирование гена полифенолоксидазы снизило на 30% активность фермента, что минимизировало эффект побурения плодовых тел в хранении и привело

к увеличению их лежкости. У популярного в биомедицине гриба *Ganoderma lucidum* «редактировали» ключевые гены пути биосинтеза тритерпеноидов и ганодеровых кислот – основных метаболитов гриба, которые обладают противоопухолевой активностью. У медицинского гриба *Cordyceps militaris* успешному редактированию с эффективностью от 55% до 89% были подвергнуты гены фоторецепторов. В заключение можно констатировать, что число экспериментальных работ по геномному редактированию на разных видах грибов возрастает многократно из года в год, и этот подход можно считать технологией будущего.

Список литературы

1. Wang Q, Coleman JJ. Progress and Challenges: Development and Implementation of CRISPR/Cas9 Technology in Filamentous Fungi. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2019, 17, p. 761-769.

ТРОПИЧЕСКИЕ ВИДЫ РОДА GANODERMA: БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Шнырева А.В.¹, Эспиноза В.², Тригос А.²

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
²Университет Веракрузана, Халапа, Веракруз, Мексика

Род *Ganoderma* насчитывает более 200 видов, которые преимущественно встречаются в регионах с теплым умеренным, субтропическим и тропическим климатом [1]. Девятнадцать видов рода *Ganoderma* описано для Мексики, среди которых есть как «лакированные» (laccate) трутовики, так и виды с «матовой неровной коркой». В работе анализировали биологическую активность – противоопухолевую, антиоксидантную и антибактериальную – у 15 природных изолятов рода *Ganoderma*, собранных в провинции Веракруз, Мексика. Плодовые тела собирали на различных субстратах – лиственных и сосновых деревьях, а также пнях сухостойной древесины. Представители семейства Ganodermataceae с древних времен и до наших дней используются в традиционной восточной медицине. Экстракты различных видов *Ganoderma* использовали в качестве лекарств для лечения различных заболеваний. Такие виды как *G. applanatum*, *G. australe*, *G. tsugae*, *G. lobatum*, *G. sessile*, *G. colossus*, *G. curtisii*, *G. oerstedii* и, главным образом, *G. lucidum* были описаны как продуценты биоактивных соединений – стероидов, тритерпенов, полисахаридов, фенолов и других, демонстрируя противоопухолевую, антибактериальную, цитотоксическую, антиоксидантную, антивирусную активности и ингибирование синтеза холестерина [2,3,4]. В штате Веракруз прежде были зарегистрированы виды *G. oerstedii*, *G. colossus*, *G. oregonense*, *G. subincrustedum* и *G. applanatum* [5,6]. Наше исследование позволило расширить список встречающихся в горных районах провинции Веракруз видов рода *Ganoderma*, а также охарактеризовать биологическую активность природных изолятов семи видов *Ganoderma*: 6 видов «лакированных» трутовиков – *G. tuberculosum*, *G. lobatum*, *G. multiplicatum*, *G. weberianum*, *G. curtisii*, *G. martinicense*; и 1 вид с «матовой коркой» – *G. tornatum*.

Филогенетический анализ проводили с использованием данных секвенирования ITS последовательности кластера генов рДНК и 29 дополнительных последовательностей из GenBank в качестве референсных видов. Штаммы GVL-05 и GVL-32, собранные с мертвой древесины,

попали в кластер *G. tornatum* – единственную в этом исследовании группу «нелакированных» трутовиков. Известно, что виды *G. tornatum* довольно широко распространены в тропических и субтропических зонах [6]. Интересно, что наиболее близкий этому виду другой, приуроченный к лиственным породам, вид *G. lobatum* относится к видам ганодерм с блестящей лакированной поверхностью плодовых тел. Близкое родство этих двух видов ганодерм было подтверждено нами в филогенетическом анализе со 100%-ной бутстреп-поддержкой. Один из штаммов ганодерм (GVL-28) попал в кластер двух близкородственных видов *G. meredithae* – *G. curtisii*. Согласно Лойду и соавторам [7], образцы, собранные на субстратах лиственных пород, следует классифицировать как вид *G. curtisii*, тогда как *G. meredithae* следует считать физиологическим вариантом *G. curtisii* со сродством к колонизации сосен. Штамм GVL-28, обнаруженный на живом дереве *Acacia pennatula* и показавший высокий уровень сходства с референсными последовательностями из Генбанка, был идентифицирован нами как *G. curtisii*. Два штамма GVL-23 и GVL-09, обнаруженные на живой сосне *Pinus* sp., были отнесены к неотропическому виду *G. multiplicatum*, впервые описанному в Южной Америке, а впоследствии обнаруженному в Африке и Азии. Близким родственником этому неотропическому виду является вид *G. martinicense* (штамм GVL-35), впервые обнаруженный на острове Мартиника (Французская Вест-Индия). Как показано в нашем анализе, клада *G. multiplicatum* – *G. martinicense* является сестринской по отношению к кладе *G. curtisii*, что полностью совпадает с результатами филогенетического анализа Лойд с соавторами [7]. Согласно авторам, другой вид – *G. tuberculosum* (штаммы GVL-21, GVL-39, GVL-40 и GVL-04) – тоже приурочен к тропическим местообитаниям. Интересно, что мексиканские штаммы *G. tuberculosum* в нашем исследовании оказались как сапротрофными, так и слабопатогенными агентами древесных пород, вызывающими первичное разложение древесины, например, *Ficus* sp. Наиболее противоречивыми оказались результаты анализа принадлеж-

ности трех штаммов (GVL-17, GVL-31 и GVL-26) виду *G. weberianum*, также распространённому в местах с тропическим климатом. Штаммы были обнаружены на живых стволах дуба и акации. Однако, эти штаммы вместе с референсными последовательностями из Генбанка показали наибольшую вариабельность ITS последовательностей. Причем в кластер *G. weberianum* попали последовательности другого морфологически близкородственного вида - *G. subamboinense var. laevisporum*. Лойд с соавторами [7] рассматривают оба этих вида как комплексный вид *G. weberianum / subamboinense*, который нуждается в дальнейшем исследовании его дифференциации с привлечением большего количества природных образцов.

Из собранных в природе плодовых тел были получены чистые мицелиальные культуры, хлороформ-метанольные (1:1) экстракты которых изучали на предмет биологической активности. Противоопухолевую активность тестировали на шести линиях опухолевых клеток человека: HBL-100 и T-47D (молочная железа), HeLa (шейка матки), A2780 (яичник), SW1573 (легкие) и WiDr (толстая кишка). Штаммы *G. tuberculosum* (GVL-04 и GVL-21), *G. tornatum* (GVL-05) и *G. weberianum* (GVL-17, GVL-26) проявили противоопухолевую активность по отношению хотя бы одной клеточной линии и подавляли рост опухолевых клеток в концентрации экстрактов менее 50 мкг/мл. Антиоксидантную активность экстрактов ганодерм определяли по способности элиминировать свободные радикалы с помощью DPPH-теста (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил). Степень обесцвечивания раствора DPPH при добавлении экстрактов определяли спектрофотометрически при длине волны 517 нм; результаты выражали в мкМ эквивалента Trolox на мг экстракта (мкМ ТЕ / мг) и в процентах к эффективности Trolox-эквивалента. Штаммы *G. tuberculosum* (GVL-21) и *G. martinicense* (GVL-35) характеризовались наилучшей антиоксидантной активностью со значениями 62,5 и 40 мкМ ТЕ/мг экстракта. Причем, экстракты этих штаммов содержали наибольшее количество фенольных соединений - 26,9 и 15,8 эквивалента галловой кислоты на 1 мг экстракта соответственно. Антибактериальную активность экстрактов мицелия видов *Ganoderma* тестировали в отношении клинических грамотрицательных (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*) и грамположительной (*Staphylococcus aureus*) бактерий, а также по отношению фитопатогенных видов -

Clavibacter michiganensis, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas albilineas* и *Risobium radiobacter*. Большинство экстрактов продемонстрировали антибактериальную активность по отношению к фитопатогенной актинобактерии *Clavibacter michiganensis* в диапазоне концентраций от 1000 до 31,5 мкг / мл. Несмотря на предсказуемость полученных результатов, антибактериальная активность по отношению к фитопатогену *C. michiganensis*, вызывающему поражение томатов, продемонстрирована впервые и представляет определенный практический интерес.

Таким образом, нам удалось обнаружить новые виды рода *Ganoderma* на территории провинции Веракруз в Мексике, а также охарактеризовать биологическую активность видов *Ganoderma*, приуроченных как к тропическим местообитаниям, так и повсеместно встречающихся в регионах с различным климатом.

Список литературы

1. Ryvardeen L. Studies in neotropical polypores 2: A preliminary key to neotropical species of *Ganoderma* with a laccate pileus. *Mycologia*. 2000. 92(1): 180-191.
2. Paterson RRM. *Ganoderma* - A therapeutic fungal biofactory. *Phytochemistry*. 2006. 67: 1985-2001.
3. Baby S, Johnson AJ, Govindan B. Secondary metabolites from *Ganoderma*. *Phytochemistry*. 2015. 114: 66-101.
4. Shnyreva AV, Shnyreva AA, César E, Padrón JM, Trigos A. Antiproliferative activity and cytotoxicity of some medicinal wood-destroying mushrooms from Russia. *Int J Med Mushrooms*. 2018. 20(1): 1-11.
5. Mendoza G, Guzmán G, Ramírez-Guillén F, Luna M, Trigos Á. *Ganoderma oerstedii* (Fr.) Murrill (Higher Basidiomycetes), a tree parasite species in Mexico: taxonomic description, rDNA study, and review of its medical applications. *Int J Med Mushrooms*. 2011. 13: 545-552.
6. Torres-Torres MG, Ryvardeen L, Guzmán-Dávalos L. *Ganoderma* subgenus in Mexico. *Rev Mex Mic*. 2015. 41: 27-45.
7. Loyd ALL, Barnes CW, Held BW, Schink MJ, Smith JA, Blanchette RA. Elucidating "lucidum": Distinguishing the diverse laccate *Ganoderma* species of the United States. *Plos One*. 2018. 13(7): e0199738.

КЛЮЧЕВЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ, ПРОИСХОДЯЩИЕ В ГЕНОМАХ ВЫСОКОАКТИВНЫХ ГРИБНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ПРИ УЛУЧШЕНИИ КЛАССИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Жгун А.А.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт Биоинженерии, Москва

Основным способом повышения продукции вторичных метаболитов (ВМ) у мицелиальных грибов является классический метод улучшения (CSI, *classical strain improvement*), связанный с многораундовым случайным мутагенезом и скринингом [1]. Метод позволил, начиная с 1950-х, получить важнейшие промышленный штаммы, у которых выход фармацевтически-значимых ВМ увеличен в 100-1000 и более раз по сравнению с природными изолятами. До последнего времени не было сведений о молекулярных основах этих изменений, то есть тех положительных мутациях, отбираемых в процессе скрининга, совокупность которых позволяет получить штамм-супер-продуцент по целевому ВМ.

В настоящее время единственным объектом, для которого всесторонне охарактеризованы принципиальные изменения в геномах улучшенных штаммов, является *Penicillium chrysogenum*, продуцент пенициллина G. Одной из пионерских работ явилось полногеномное исследование изменений, произошедших в процессе улучшения и влияющих на вторичный метаболизм β-лактамов, у штаммов *Penicillium chrysogenum* NRRL1951, Wisconsin 54-1255, DS17690 и DS68530, находящихся на разных стадиях улучшения в ходе одной программы CSI [2]. Среди множества мутационных изменений авторы выделили два основных класса изменений, приведших к суперпродукции пенициллина G (пенG) у DS17690, по сравнению с исходным штам-

мом NRRL1951. Это – мутации, приводящие к потере продукции нецелевых вторичных метаболитов и изменения, приводящие к нарушению работы системы глобальной регуляции [2]. Однако до конца непонятно, насколько эти изменения универсальны для программ CSI мицелиальных грибов.

В связи с этим целью нашей работы был поиск ключевых изменений в геномах двух других грибных продуцентов, *Acremonium chrysogenum* и *Aspergillus terreus*, у которых выходы антибиотика цефалоспорина С и холестерин-понижающего средства ловастатина увеличены в ~300 и ~200, раз соответственно. Для этого на платформе *Illumina HiSeq 2500* определили последовательности геномов высокоактивных штаммов *A. chrysogenum* НУ (ВКМ F-4081D) и *A. terreus* НУ (№43-16) и сравнили с аннотированными в GenBank последовательностями для исходных штаммов диких типов.

В результате сравнения геномной последовательности *A. chrysogenum* НУ (ВКМ F-4081D) [3] с ранее опубликованной последовательностью исходного штамма дикого типа *A. chrysogenum* WT (ATCC 11500) [4] выявили 3730 различий, 56 из которых относятся к группе HIGH, 525 – к группе MODERATE, 373 – LOW и 2769 – MODIFIER. Важнейшие отличия связаны с: i) удалением различных «стресс-респонс» элементов; ii) максимальной «разгрузкой» внутриклеточного содержания S-аденозилметионина от использования в ряде путей метаболизма; iii) делециями в центральных генах путей биосинтеза альтернативных (целевому) вторичных метаболитов; iv) изменениями в системе ремоделирования хроматина; v) множественными изменениями в протеин-киназах и другие изменения. Не обнаружили изменений, затрагивающие биосинтетические «ранний» и «поздний» кластер генов бета-лактамов. Сравнение геномной последовательности *A. terreus* НУ (№43-16) [5] с опубликованной последовательностью штамма дикого типа *A. terreus* NIH2624 (GenBank: ASM14961v1, RefSeq: NZ_AAJN000000000.1) выявил 2871 различий, относящихся к группе HIGH (сдвиг рамки считывания, нонсенс мутации, нарушения сплайсинга, потери стартового или стоп кодонов). Основные изменения оказались связанными с: i) биосинтезом ацетил-КоА; ii) биосинтезом холестерина; iii) глобальной регуляцией; iv) биосинтезом клеточной стенки; v) биосинтезом полиаминов; vi) разгрузкой потребления S-аденозилметионина. Также не обнаружили изменений, затрагивающих биосинтетический кластер генов ловастатина.

Среди многочисленных мутационных изменений, произошедших в процессе улучшения как *A. chrysogenum* так и *Aspergillus terreus* методом случайного мутагенеза выявили несколько основных групп, связанных с биосинтезом вторичных метаболитов. К первым двум группам относятся ранее описанные события, связанные с i) инактивацией альтернативных путей вторичного метаболизма и ii) изменениями в системе глобальной регуляции. Кроме того, наши данные указывают на значительные и общие для обоих улучшенных продуцентов изменения в iii) метаболизме серы и метилировании, а также, iv) в системе ацетилирования. Эти два последних типа изменений прослеживаются, в частности, на уровне инактивации целой группы реакций, расходующих S-аденозилметионин, и изменений в биосинтезе ацетил-кофермента А, соответственно.

Полученные данные важны для понимания молекулярных основ улучшения грибных штаммов и могут иметь практический выход для таргетированного создания грибных штаммов-суперпродуцентов ВМ.

Список литературы

1. Zhgun A.A. Random Mutagenesis of Filamentous Fungi Stains for High-Yield Production of Secondary Metabolites: The Role of Polyamines // Genotoxicity and Mutagenicity - Mechanisms and Test Methods, Chapter 2. / ed. Soloneski S., Larramendy M.L. IntechOpen, 2021. P. 25–41.
2. Salo O. V et al. Genomic mutational analysis of the impact of the classical strain improvement program on β -lactam producing *Penicillium chrysogenum*. // BMC Genomics. BioMed Central, 2015. Vol. 16. P. 937.
3. Bartoshevich Y. et al. Patent RU 2426793 C12P035/06, C07D501/02, C12R001/75. Method of cephalosporin C biosynthesis by using new *Acremonium chrysogenum* strain RNCM NO F-4081D. 2011.
4. Terfehr D. et al. Genome Sequence and Annotation of *Acremonium chrysogenum*, Producer of the β -Lactam Antibiotic Cephalosporin C. // Genome Announc. 2014. Vol. 2, № 5. P. e00948-14-e00948-14.
5. Dzhavakhija V.G., Voinova T.M., Vavilova N.A., Santsevich N.I., Vinokurova N.G., Kadomtseva V.M., Dzhavakhija V.V. M.A.. Patent RU 2261901C2. Fungus strain *aspergillus terreus* 44-62 as producer of lovastatin, industrial method for isolation of lovastatin and method for lactonization of statins.

Глава 2.

Физиология и биохимия грибов

doi: 10.14427/cmr.2022.ix.02

БИОСИНТЕЗ ИЛИЦИКОЛИНОВ СИБИРСКИМИ ФИТОПАТОГЕННЫМИ ГРИБАМИ РОДА CORINECTRIA GONZALEZ & CHAVERRI

Антипова Т.В.¹, Желифонова В.П.¹, Баскунов Б.П.¹, Литовка Ю.А.^{2,3}, Павлов И.Н.^{2,3}

¹Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН им. Г.К. Скрыбина ФИЦ ПНЦ БИ РАН, Пущино

²Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН, Красноярск

³Сибирский государственный университет науки и технологий им. М. Ф. Решетнева, Красноярск

На территории Средней Сибири выделены аскомицетовые грибы, вызывающие некрозно-раковые поражения древостоев *Abies sibirica* Ledeb. Изучение морфологических и молекулярно-генетических особенностей штаммов позволило отнести их к роду *Corinectria* Gonzalez & Chaverri (порядок *Hypocreales*, семейство *Nectriaceae*) (Pavlov et al., 2020). Сибирские штаммы *Corinectria* spp. проявляли фитопатогенные свойства в отношении семян *Picea abies* (L.) Karst., проростков и семян *A. sibirica*, ингибируя ростовые процессы и вызывая обширные некрозы растительных тканей. Было высказано предположение, что в патологическом процессе могут участвовать вторичные метаболиты *Corinectria* spp.

Род *Corinectria* был обособлен от рода *Neonectria* Wollenw в результате современных молекулярно-генетических исследований (Gonzalez, Chaverri, 2017). В стадии анаморфы *in vitro* грибы рода *Corinectria* не формируют макроконидии и хламидоспоры, характерные для представителей рода *Neonectria*. Макроконидии можно обнаружить только в природных условиях. Следует отметить, что в литературе отсутствуют сведения о вторичных метаболитах грибов *Corinectria*. Для фитопатогенных видов *Nectria* (Fr.) Fr., *Neonectria* и их анаморф известен синтез вторичных метаболитов с выраженным фитотоксическим действием. По химическому строению их относят к меротерпеноидам, сесквитерпенам, тритерпенам, бензохинонам и другим. В связи с этим целью работы было изучение вторичных метаболитов сибирских штаммов *Corinectria* spp., выделенных из язвенных поражений *A. sibirica*.

Объектом исследования служили 23 штамма грибов рода *Corinectria*, изолированных в чистую культуру в период 2014–2021 гг. на территории Средней Сибири. Методы выделения штаммов из язвенных поражений пихты сибирской и их идентификация описаны в (Pavlov et al., 2020). Штаммы хранятся в коллекции чистых культур лаборатории лесных культур, микологии и фитопатологии Института леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН (Красноярск, Россия).

По морфолого-культуральным признакам штаммы были разделены на два морфолого-культуральных типа (МКТ 1 и МКТ 2). Молекулярно-генетические исследования подтвердили наличие двух изолированных групп, что свидетельствует о существовании в Сибирском регионе, предположительно, двух новых видов *Corinectria* spp. (Pavlov et al., 2020). Штаммы из МКТ 1 на агаризованных средах образовывали приземистые колонии (до 1 мм) диаметром 38–40 мм, окрашенные в ярко-оранжевый цвет,

реверс колоний имел ярко охряно-оранжевый цвет. Для штаммов из МКТ 2 характерно формирование высоких (до 4 мм) пушистых колоний белого цвета с возвышающимся центром, диаметром до 30 мм; реверс колоний слабо окрашен, желтовато-палевого цвета. Штаммы из двух МКТ образуют обильные, гладкие, одноклеточные, собранные в ложные головки микроконидии, которые формируются на *Acremonium*-подобных конидиефорах. Макроконидии и хламидоспоры не обнаружены. Для штаммов из МКТ 1 характерны более длинные конидиефоры, ответвляющиеся под прямым либо острым углом, и мелкие вытянутые яйцевидные микроконидии, собранные в объемные ложные головки. У штаммов из МКТ 2 конидиефоры короче, могут быть септированными и ветвящимися; микроконидии более крупные и округлые, собраны в компактные ложные головки.

При изучении вторичных метаболитов штаммы культивировали глубоко в колбах (750 мл) со 100 мл среды НРК (Бухало, 1988) и АФ (Araki et al., 2019) на шейкере (220 об/мин) при 22±1°C в темноте 11 сут. Среды заседали суспензией 7 суточных культур, выращенных в стационарных условиях при 22 ± 1°C в 2% мальт экстракте.

Метаболиты извлекали из фильтрата культуральной жидкости и мицелия при pH 3 трехкратной экстракцией хлороформом и смесью хлороформ-метанол (1 : 1) соответственно. Экстракты анализировали методом ТСХ на пластинках силикагеля (Silica gel F254, “Merck”, Германия) в системах петролейный эфир-этилацетат (7 : 3) и хлороформ-ацетон (93 : 7). Метаболиты обнаруживали по поглощению и флуоресценции при 254 и 366 нм и после опрыскивания пластин 5%-ным раствором FeCl₃ · 6H₂O в метаноле. Вещества выделяли препаративной ТСХ на пластинках силикагеля (Silica gel F254, “Merck”, Германия) в системах растворителей. Идентификацию выделенных метаболитов осуществляли на основе сравнения данных УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии с литературными источниками и базами данных (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Подробную информацию о структуре соединений получали при анализе МС/МС спектров при энергии коллизии 20–40 %. Концентрацию вторичных метаболитов определяли с помощью программы “Sorbfil TLC View”.

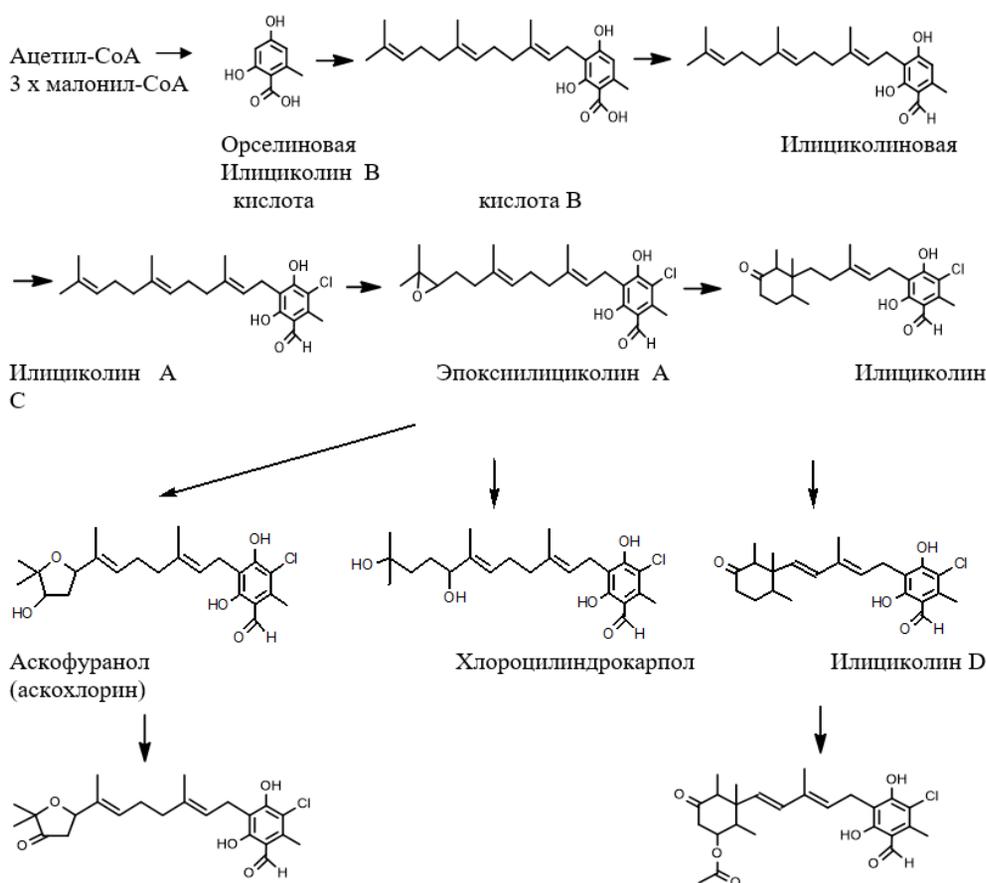
Анализ экстрактов показал присутствие во всех пробах соединений, которые поглощали УФ-свет, реагировали с 5%-ным раствором FeCl₃ в метаноле, что указывало на наличие фенольной группы в структуре соединений. На основании данных УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии по профилю вторичных метаболитов штаммы *Corinectria*

spp. также были разделены на две группы, которые оказались идентичными группам, выделенным по морфологическим и молекулярно-генетическим признакам. У штаммов первой группы (13 культур) были обнаружены илициколилин А, эпоксиилициколилин А, илициколиновая кислота В и хлороцилиндрокарпол. У штаммов второй группы (10 культур) были обнаружены илициколины С и D (аскохлорин), F и аскофуранол. Идентифицированные у сибирских штаммов *Corinectria spp.* соединения относят к меротерпеноидам илициколинового ряда. Илициколины ранее были обнаружены у разных видов фитопатогенных грибов *Nectria*, *Neonectria* и их анаморф. Для илидоциколинов С, F, E показана антибактериальная, слабая антифунгальная и фитотоксическая активности (Gutierrez et al., 2005; Yu et al., 2019). Таким образом, вторая группа сибирских штаммов должна обладать более высокой фитотоксичностью. Проведенные первичные исследования *in vitro* на проростках и сеянцах хвойных подтвердили более высокую фитотоксичность сибирских штаммов из МКТ 2.

Последовательность реакций биосинтеза илициколинов и генов участвующих в этом процессе была изучена у

Acronium egyptiacum (Araki et al. 2019). Было показано, что в начале происходит изопренилирование орселиновой кислоты поликетидсинтазой с образованием илициколиновой кислоты В (рис.). Далее под действием редуктазы образуется илициколилин В, а затем происходит его хлорирование при С-3 бензальдегидного кольца галогеназой с образованием илициколилина А. Илициколилин А эпоксилируется при С-18 и С-19 изопренового конца молекулы эпоксиоксидазой с образованием эпоксиилициколилина А. Далее путь синтеза разветвляется – эпоксиилициколилин А с помощью мембранносвязанной терпенциклазой превращается в илициколилин С, а затем дегидрогеназой в илициколилин D (аскохлорин). Второй путь ведет к образованию аскофуранона. Эпоксиилициколилин А гидроксилируется при С-16 монооксигеназой P450, затем мембрансвязанной терпенциклазой превращается в аскофуранол, а затем дегидрогеназой в аскофуранон. Было показано, что гены биосинтеза этих двух путей расположены в удаленных кластерах, которые, по мнению автора, могут контролироваться общим регуляторным фактором AscR (Araki et al. 2019).

Рис. Схема биосинтеза илициколинов (Araki et al, 2019)



Таким образом, у сибирских штаммов *Corinectria spp.* МКТ 1 конечными продуктами биосинтетической цепочки были эпоксиилициколилин А и хлороцилиндрокарпол. Последний образуется при гидроксилировании и гидрировании эпоксиилициколилина А. У всех штаммов этой группы преобладал эпоксиилициколилин А его доля составляла около 75% от всех илициколинов. Причем, не происходило индукции биосинтеза илициколинов другой структуры при выращивании штаммов в среде АF, в отличие от *A. egyptiacum* (Araki et al. 2019). Это может свидетельствовать об отсутствии у штаммов МКТ 1 генов биосинтеза илици-

колинов С, D, F и аскофуранола. У штаммов МКТ 2 среди метаболитов преобладали илициколины С и D: 40 и 30% от суммы илициколинов соответственно. По-видимому, у этой группы штаммов присутствуют все гены биосинтеза илициколинов кроме гена биосинтеза аскофуранона и регуляция их биосинтеза происходит аналогично *A. egyptiacum*.

В настоящее время род *Corinectria* включает три вида: новый вид *C. constricta* Gonzalez & Chaverri, комбинированный новый *C. fuckeliana* (Booth) Gonzalez & Chaverri (= *Nectria fuckeliana* Booth; = *Neonectria fuckeliana* (Booth)

Castl. & Rossman; = *Nectria cucurbitula* (Fr.) Fr. f. abietis Roumeguere; = *Cylindrocarpon cylindroides* Wollenw. var. *tenue* Wollenw.) и комбинированный новый вид *C. tsugae* (Gams) Gonzalez & Chaverri (= *Acremonium tsugae* Gams; = *Neonectria tsugae* (Gams) Lombard & Crous) (Gonzalez, Chaverri, 2017). Сибирские штаммы *Corinectria spp.*, согласно проведенным молекулярно-генетическим исследованиям, не относятся ни к одному из указанных видов и образуют две изолированные близкородственные клады. Морфологические и метаболические различия позволяют разделить их на две группы и предположить наличие двух новых видов, вызывающих раковые заболевания *A. sibirica* на территории Сибири.

Таким образом, при изучении вторичных метаболитов у 23 штаммов грибов рода *Corinectria*, выделенных в Средней Сибири из язвенных поражений *A. sibirica*, было обнаружено 8 соединений илициколинового ряда. По биосинтезу вторичных метаболитов штаммы были разделены на две группы. Обнаружена корреляция между морфологическими признаками *Corinectria* и спектром илициколинов. Штаммы из второго морфолого-культурального типа проявляют более высокую фитотоксичность, поскольку в их метаболическом профиле присутствуют илициколины С и D.

Список литературы

1. Araki Y., Awakawa T., Matsuzaki M., Cho R., Hoshino Sh., Shinohara Y., et. al. Complete biosynthetic pathways of ascofuranone and ascochlorin in *Acremonium egyptiacum*. 2019. PNAS. V. 116. № 17. 8269-8274.
2. Pavlov I.N., Vasaitis R., Litovka Y.A., Stenlid J., Jankovsky L., Timofeev A.A., Menkis A. Occurrence and pathogenicity of *Corinectria spp.* – an emerging canker disease of *Abies Sibirica* in Central Siberia. Scientific Reports. 2020. V. 20. P. 5597.
3. Gonzalez C.D., Chaverri P. *Corinectria*, a new genus to accommodate *Neonectria fuckeliana* and *C. nonstrita* sp. nov. from *Pinus radiata* in Chili. Mycol. Progress. 2017. V. 16. P.1015-1027.
4. Gutierrez M., Theodulos Cr., Lolas J.R.M., Schmeda-Hirschmann G. Bioactive Metabolites from the Fungus *Nectria galligena*, the Main Apple Canver Agent in Chili. J. Agric. Food Chem. 2005. V. 53. 7701-7708.
5. Yu H-B, Jiao H., Zhu Y-P, Zhang J-P, Lu X-L, Liu X-Y. Bioactive metabolites from the Arctic fungus *Nectria sp.* B-13. J. Asian Natural Products Research. 2019. V.21. № 10. 961-969.
6. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. Киев. 1988. 144с.

ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ УПРАВЛЕНИЯ В ГИФЕ *NEUROSPORA CRASSA*

Асланиди К.Б.

Институт Теоретической и Экспериментальной Биофизики РАН, Пущино, Московская область

Постгеномная эра в биологии определяется поиском и выявлением механизмов контроля и управления ростом и образованием сложной анатомической структуры. Предполагается, что дифференцировка у животных возникла как следствие многоклеточности и позволяла усиливать отдельные уникальные функции одноклеточных предков в разных клетках [1].

Для координации морфогенеза в процессе эволюции возникли три основных способа: биохимические сигналы, биомеханические силы и биоэлектрическую коммуникацию через проницаемые контакты [2,3]. Отметим, что в современной литературе отсутствует общепринятое мнение о природе сигналов, контролирующих образование биологических форм и функций, от надмолекулярных структур, до уровня клеток, многоклеточных тканей и вплоть до разветвления сложной анатомии многоклеточных организмов [4,5,6]. При этом основные физиологические свойства межклеточной передачи сигналов через проницаемые контакты сходны у грибов, растений и животных [7,8].

Neurospora crassa представляет собой цепочку многоядерных сегментов длиной до 100 мкм, связанных проницаемыми контактами в виде септальных пор. Простая анатомия гифы создаётся верхушечным ростом со скоростью 20 - 30 мкм/мин и периодическим образованием боковых ветвей [7,9]. Связь клеточной энергетики с электрическим потенциалом на плазматической мембране отмечалась ещё в ранних работах [8,9,10,11]. Клетки *Neurospora crassa* могут оказывать друг другу энергетическую поддержку с помощью потоков ионов через проницаемые контакты [12-13]. Детальный теоретический и экспериментальный анализ энергетической кооперации в растущей верхушке

Neurospora crassa позволил сделать вывод о возможности создания локального электрического поля посредством пространственного разделения в мембранных системах соседних клеток генераторов и потребителей энергии [13 - 14]. Локальное электрическое поле в системе клеток, связанных проницаемыми контактами, свойственно самым различным организмам от грибов и планарий до человека.

Важнейшие закономерности функционирования системы клеток, связанных проницаемыми контактами, получены на основании классических представлений о живой клетке как об открытой неравновесной термодинамической системе, пространственная структура которой поддерживается потоком энергии из внешней среды. На основании теоретических оценок и анализа экспериментальных результатов, полученные на синезеленных водорослях, мицелиальных грибах и культивируемых клетках млекопитающих, могут быть сформулированы основные закономерности взаимодействия невозбудимых клеток через проницаемые межклеточные контакты:

1. Необходимым и достаточным условием передачи энергии через проницаемые контакты в виде ионных потоков является наличие электрического тока между клетками. Мощность, передаваемая от клетки донора к клетке акцептора, пропорциональна электрическому току, текущему через проницаемые контакты.

2. Энергетические и электродиффузионные взаимодействия через проницаемые контакты эффективны на расстояниях менее 1 мм и ограничены величиной пространственной константы эквивалентного электрического кабеля, эффективностью АТФаз, создающих электрический потенциал на плазматической мембране, производ-

ством АТФ и потоком субстратов, поступающих в гиперполяризованную клетку.

3. Передача энергии в виде ионных потоков является универсальной функцией всех проницаемых контактов и присуща всем клеточным популяциям.

При этом, направленность управления внутриклеточными процессами определяется тем фактом, что характерные времена экспрессии генов, синтеза и встраивания органических молекул во много раз превосходят характерные времена изменений электрических параметров клетки. Экспрессия генов, синтез и встраивание органических молекул происходят со значительной задержкой по времени после изменений электрических параметров клетки. Для всех систем клеток, связанных проницаемыми контактами, предложена иерархия управляющих параметров:

1. Гиперполяризованная клетка управляет мембранным потенциалом деполяризованных соседей и приближает значение их мембранного потенциала к своему уровню.

2. Мембранный потенциал любой клетки управляет ионным составом цитоплазмы.

3. Ионный состав цитоплазмы управляет экспрессией генов, ответственных за процессы пролиферации, дифференцировки или апоптоза.

4. Вновь синтезированные ДНК, РНК, белки или липиды могут изменять мембранный потенциал и ионный состав цитоплазмы.

Уникальность строения растущей верхушки гифы *Neurospora crassa* заключается в больших размерах многоядерных клеток. При этом, градиент потенциала вдоль растущей гифы предполагает соответствующее распределение активностей неорганических ионов (H^+ , K^+ , Na^+ , CO_2^-), а наличие большого количества ядер позволяет специализировать отдельные ядра и синтезировать в разных участках растущей гифы ДНК, РНК, разные липиды и разные белки.

Растущий кончик гифы должен иметь низкий рН, высокое содержание ионов Na^+ и низкое содержание ионов K^+ . Это означает, что ядра, расположенные вблизи кончика будут преимущественно синтезировать ДНК, липиды и белки, осуществляющие симпорт глюкозы и аминокислот. Эти ядра будут делиться чаще ядер в дорсальной части кончика. Окончательная дифференцировка и спорообразование будут происходить при уменьшении градиента потенциала вдоль верхушки, прекращении роста и прекращении поступления субстратов.

Не все предложенные соображения имеют экспериментальные подтверждения для гифы *Neurospora crassa*, но могут быть полезны для постановки новых экспериментов.

Список литературы

1. Newman SA. Cell differentiation: What have we learned in 50 years? *J Theor Biol.* 2020 Jan 21;485:110031. doi: 10.1016/j.jtbi.2019.110031. Epub 2019 Sep 27. PMID: 31568790.
2. Levin, M. Endogenous bioelectrical networks store non-genetic patterning information during development and regeneration. *J. Physiol.* 2014;592, 2295–2305.
3. Newman S.A. Inherency of Form and Function in Animal Development and Evolution. *Front. Physiol.* 2019; 10, 702.
4. Levin M. Bioelectric signaling: Reprogrammable circuits underlying embryogenesis, regeneration, and cancer. *Cell.* 2021 Apr 15;184(8):1971-1989. doi: 10.1016/j.cell.2021.02.034. Epub 2021 Apr 6.
5. George L.F., Bates E.A. Mechanisms Underlying Influence of Bioelectricity in Development. *Front Cell Dev Biol.* 2022; 10: 772230. Published online 2022; Feb 14. doi: 10.3389/fcell.2022.772230. PMID: PMC8883286 PMID: 35237593
6. Tassinari R, Cavallini C, Olivi E, Facchin F, Taglioli V, Zannini C, Marcuzzi M, Ventura C. Cell Responsiveness to Physical Energies: Paving the Way to Decipher a Morphogenetic Code. *Int J Mol Sci.* 2022 Mar 15; 23(6):3157. doi: 10.3390/ijms23063157. PMID: 35328576 Free PMC article. Review.
7. Асланиди К.Б., Потапова Т.В., Чайлахян Л.М. Транспорт энергии через высокопроницаемые контактные мембраны. *Биол. Мембраны* 1988; Т. 5. С. 613–621.
8. Potapova T.V., Aslanidi K.B.. Energy coupling of adjacent cells as an universal function of cell-to-cell permeable junctions. *Progress Cell Res.* 1995; V. 4. P. 53.
9. Davis, R.H. *Neurospora: contributions of a model organism.* 2000. Oxf. Univ. Press.
10. Slayman C.L. Electrical properties of *Neurospora crassa*: respiration and the intracellular potential // *J. Gen. Physiol.* 1965; V. 49. P. 93-116.
11. Harold F. M., Calwell J. H. Tips and currents: electrobiology of apical growth: Tip growth in plant and fungal cells / Ed. Heath I. B. San Diego, CA: Academic Press, 1990; P. 59-90.
12. Potapova T.V., Aslanidi K.B., Belozerskaya T.A., Levina N.N. (1988) Transcellular ionic currents studied by intracellular potential recordings in *Neurospora crassa* hyphae. (Transfer of energy from proximal to apical cells). *FEBS Lett.* 241, P.173–176.
13. Potapova, T. V. Cell-to-cell communication in the tip growth of mycelial fungi. In *Biocommunication of Fungi* (G. Witzani ed.), Springer-Verlag, Berlin–Heidelberg 2012: P. 103-114.
14. Потапова Т.В. Мембранная биоэнергетика и разделение труда в системах электрически связанных клеток. *Цитология.* 2021; Т. 63 (1). С. 1-12.

МОДИФИКАЦИЯ СПОР МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ПРИРОДНЫМИ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТАМИ

Бокарева Д.А.¹, Мысякина И.С.², Ваняцн М.А.¹

¹Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

²ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», Москва

Споры грибов являются покоящимися структурами. Они представляют собой одну из стадий онтогенеза, которая необходима для сохранения жизнеспособности при неблагоприятных условиях окружающей среды и позволяет вернуться к процессу роста при изменении условий в благоприятную сторону (1). У мицелиальных грибов выделяют два типа покоя – экзогенный и эндогенный/кон-

ститутивный. Эндогенный тип покоя считается глубоким, так как отличается сложной многоступенчатой регуляцией процессов прорастания. Споры, находящиеся в состоянии эндогенного покоя, при появлении воды не переходят в стадию активного метаболизма, так как процесс их прорастания контролируется системой цАМФ, специальными ингибиторами и стимуляторами, системой клеточных

барьеров и метаболических блоков. Второй тип покоя – экзогенный – характеризуется более простой системой регуляции, и для начала прорастания достаточно удалить лимитирующий фактор, которым чаще всего является отсутствие экзогенной воды (2). Кроме того, на прорастание спор оказывают влияние многие факторы внешней среды, в том числе химические соединения, использование которых может регулировать скорость выхода спор из состояния покоя и, таким образом, оказывать влияние на рост грибов, перспективных с точки зрения биотехнологии. В настоящей работе в качестве регуляторов прорастания использованы природные полиэлектролиты (ПЭ), которыми покрывали поверхность покоящихся грибных спор.

Цель работы – исследование характера влияния модификации поверхности экзогенно покоящихся спор мицелиальных грибов полиэлектролитами на скорость их прорастания.

Объекты исследования. Для работы использовали муконовый гриб *Cunninghamella japonica* (синоним – *C. echinulata*) ВКМ F-1204 (-) (отдел *Zygomycota*, подотдел *Mucoromycotina*, порядок *Mucorales*, семейство *Cunninghamellaceae*) и анаморфный гриб аскомицетного аффинитета *Aspergillus sydowii* ВКМ F-441 (отдел *Ascomycota*, класс *Eurotiomycetes*, порядок *Eurotiales*, семейство *Aspergillaceae*).

Условия культивирования и получение спорового материала. Грибы выращивали в пробирках со скошенном сусло-агаре в течение 7 суток при температуре 25°C, а затем полученными спорами засеивали стеклянные матрасы с сусло-агаром, далее спорогенную культуру выращивали в течение 12 суток в термостате при температуре 25°C. Споры с поверхности мицелия смывали холодной водой (+4°C), полученный споровый материал отфильтровали через капроновый фильтр, чтобы удалить обрывки мицелия и агар.

Затем споры осаждали с помощью центрифугирования при 3000 об./мин в течение 10 минут.

Для модификации отбирали ~0,01 г замороженного материала спор и разводили его в ~1 мл деионизованной воды до концентрации С~20 г/л. Из полученной суспензии спор отбирали по 0,3 мл и добавляли к 1 мл раствора полиэлектролита. Полученный раствор перемешивали на шейкере при 1000 об./мин в течение 15 минут. Далее модифицированные споры дважды осаждали центрифугированием в деионизованной воде в течение 2 минут при 2000 об./мин, надосадочную жидкость отбирали. Процедуру повторяли три раза. Часть модифицированных спор использовали для измерения дзета-потенциала, другую – для оценки прорастания.

Для модификации поверхности спор использовали природные полиэлектролиты: в качестве полианиона – декстран сульфат (DS) в концентрации 0,1, 0,5 и 1%, а в качестве поликатиона – диэтиламиноэтилдекстран (DEAE) в концентрации 0,1, 0,5 и 1%.

Прорастание спор проводили на предметных стеклах, покрытых тонким слоем сусло-агара (0,5 мл), на которые наносили 0,1 мл суспензии модифицированных спор, и помещали в стерильные чашки Петри. Чашки со стеклами помещали в термостат при температуре 25°C.

Для модификации были выбраны споры двух мицелиальных грибов с разной скоростью прорастания. Споры *Cunninghamella japonica* прорастают в течение 3–6 часов с момента засева, а споры *Aspergillus sydowii* – в течение 12–14 часов.

После модификации был произведен замер дзета-потенциала, как исходных спор, так и модифицированных. Данные отражены в таблице.

Таблица 1.

а) Дзета-потенциал спор *C. japonica* без покрытия и покрытых ПЭ

Образец	Число слоев	Концентрация полиэлектролита, г/л / масс. %	Дзета-потенциал, мВ
CJ K	0	-	-21,6
CJ-DEAE	1	1,011 / 0,1	4,8
CJ-DS	1	1,044 / 0,1	-19,4
CJ-DEAE	1	5,01 / 0,5	3,9
CJ-DS	1	5,024 / 0,5	-32,8
CJ-DEAE	1	10 / 1	6,1
CJ-DS	1	10,11 / 1	-22,2

б) Дзета-потенциал спор *A. sydowii* без покрытия и покрытых ПЭ

Образец	Число слоев	Концентрация полиэлектролита, г/л / масс. %	Дзета-потенциал, мВ
AS K	0	-	-32,9
AS -DEAE	1	1,011 / 0,1	32,2
AS-DS	1	1,044 / 0,1	-40,2
AS -DEAE	1	5,01 / 0,5	26,8
AS-DS	1	5,024 / 0,5	-42,4
AS -DEAE	1	10 / 1	33,2
AS-DS	1	10,11 / 1	-20,6

По данным величин значений дзета-потенциала можно сделать вывод об успешно проведенном покрытии поверхности спор: мы наблюдаем изменение величины заряда по-

верхности при покрытии полианионом и изменение величины и знака заряда при покрытии поликатионом.

Для визуального наблюдения использовали световую микроскопию. В нулевой точке споры *S. japonica* имели округлую форму; клетки крупные с четко просматривающейся клеточной стенкой (КС). В диапазоне 1–3 час, как контрольные, так и модифицированные споры увеличивались в размерах, набухали, а их клеточные стенки становились тоньше. На протяжении 5-го часа проращивания в контроле отмечалось примерно 15% спор с зачатком проростковой трубочки, в то время как у модифицированных DS спор с $C=0.1\%$, с проростковыми трубочками было 31%, а в образце спор, модифицированных DEAE с $C=0.1\%$, практически 97% спор имели проростковые трубочки, некоторые из которых уже были разветвленными. К 6 часу проращивания, как в контроле, так и у модифицированных образцов отмечалось 100%-ное прорастание спор. При дальнейшем культивировании, начиная с 7 часа, наблюдалось образование мицелия.

При увеличении концентрации ПЭ в 5 раз у спор *S. japonica*, обработанных DEAE, уже к 4 часу проращивания наблюдали практически 75% спор, имеющих проростковые трубочки, тогда как у спор, покрытых DS, в это же время лишь единичные споры имели проростковые трубочки.

Увеличение концентрации ПЭ в 10 раз от исходной также вызывало изменения скорости прорастания. У спор *S. japonica*, покрытых DEAE, можно отметить появление единичных отростков на 3 час, в то время как у спор, покрытых DS, наблюдалось только набухание. Так же можно отметить, что споры, покрытые DEAE с $C=10\%$, к 6 часам имеют практически 90% проростковых трубочек, а споры, покрытые DS с аналогичной концентрацией, имеют всего лишь 45–50% проростковых трубочек. Эти наблюдения позволяют сделать вывод, что природный поликатион DEAE ускоряет прорастание спор, и скорость прорастания увеличивается с увеличением концентрации ПЭ, в то время как природный полианион DS при небольших концентрациях стимулирует скорость прорастания, а в концентрации 10% снижает ее.

В точке “0” споры *A. sydowii* очень мелкие, имеют округлую форму, их клеточная стенка четко просматривается в световом микроскопе. Во временном диапазоне 1–5 часов споры не подвергались изменению. На 7 час проращивания отмечено набухание спор и утоньшение клеточной стенки. На 12 час проращивание, как в контроле, так и у модифицированных DS и DEAE с $C=1\%$ спор практически 97% спор имели проростковые трубочки. При дальнейшем культивировании на поверхности агара (через 1 сутки) наблюдалось образование разветвленного мицелия с воздушными гифами.

Увеличение концентрации ПЭ до 5% не влияло на скорость прорастания спор *A. sydowii*, и к 12 часам 100% спор были проросшими, а увеличение концентрации до $C=10\%$ ускоряло прорастание спор, наблюдались более длинные проростковые трубочки, а к 15 часам появлялся разветвленный мицелий.

Полученные результаты позволяют расширить круг соединений, способных регулировать скорость прорастания покоящихся спор и прогнозировать их более быстрый выход из состояния покоя, что особенно важно для мицелиальных грибов – синтетиков ряда соединений, используемых в биотехнологических процессах, а также для клинически значимых штаммов.

Список литературы

1. Феофилова Е.П., Ивашечкин А.А., Алёхин А.И., Сергеева Я.Э. Споры грибов: покой, прорастание, химический состав и значение для биотехнологии // Прикладная биохимия и микробиология. 2012. Т. 48. № 1. С. 5–17.
2. Мысякина И.С., Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Бокарева Д.А., Феофилова Е.П. Прорастание спор мицелиальных грибов в связи с экзогенным покоем // Микробиология. 2016. Т. 85. № 3. С. 269–274.

МЕМБРАННЫЕ ЛИПИДЫ И ОСМОЛИТЫ В АДАПТАЦИИ АЦИДОФИЛЬНОГО БАЗИДИОМИЦЕТА *SISTOTREMA BRINKMANNII*

Януцевич Е.А.¹, Данилова О.А.¹, Грум-Гржимайло О.А.², Терёшина В.М.¹

¹Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Москва
²Беломорская биологическая станция им. Н.А. Перцова Биологического факультета МГУ

Экстремофилы способны осваивать ниши обитания, непригодные для жизни большинства организмов. Интерес представляет не только их способность к жизни в экстремальных условиях, но и невозможность развиваться при их отсутствии. Исследование биохимических основ экстремофилии необходимо для понимания того, какие адаптационные механизмы и свойства позволили им адаптироваться к экстремальным условиям. Известно, что ряд экстремофильных микромицетов (термофилы, психрофилы, галофилы, ксерофилы, алкалофилы) используют для адаптации к экстремальным условиям изменения в составе осмолитов и мембранных липидов. Так, нами впервые было показано ключевое значение трегалозы в термофилии [1] и алкалофилии грибов [2,3]. Также нами было впервые получены данные о существенном росте доли небислойных фосфатидных кислот (ФК) под действием теплового шока

у трех мезофильных грибов [4], а также высокая доля этих фосфолипидов в составе мембранных липидов у термофильных грибов [1,5] и у алкалофилов [2,3].

Мы предполагаем, что в адаптации ацидофильных грибов к низким значениям pH ключевую роль может играть защита мембран и макромолекул клетки, которая осуществляется как за счёт протекторных соединений углеводной природы — осмолитов, так и за счёт изменения состава липидов мембран клетки. Ацидофилы практически не изучены с этих позиций. Цель работы — исследование роли осмолитной системы и мембранных липидов в адаптации ацидофильного гриба *Sistotrema brinkmannii* к экстремальным значениям pH.

Объект исследования — базидиомицетный ацидофильный гриб *Sistotrema brinkmannii* (Bres.) J.Erikss. (Hydnaceae, Cantharellales, *Incertae sedis*, Agaricomycetes, Agaricomycotina,

Basidiomycota, Fungi), был выделен с очеса сфагнового мха олиготрофного болота аапа-типа, идентифицирован и депонирован в ГенБанк научным сотрудником Беломорской биологической станции им. Н.А. Перцова Биологического факультета Московского государственного университета (ББС МГУ) О.А. Грум-Гржимайло. Гриб поддерживали на стандартной агаризованной среде на основе солодового экстракта (17 г/л) с цитратно-фосфатным буфером (рН 4.0) при оптимальной температуре 24–25°C. Для биохимических исследований гриб выращивали 4 сут в чашках Петри на агаризованной среде, покрытой целлофановым диском, в темноте при оптимальной температуре 24–25°C. Для посева на чашки использовали фрагменты мицелия 1x1 мм, взятые с активно растущего края колонии посевной чашки. Для исследования изменений в динамике роста гриб выращивали в течение 6, 12 и 18 сут. Для исследования воздействия различных значений рН гриб выращивали в течение 18 сут при рН 2.6, 4.0 и 6.0. Выросший мицелий отделяли скальпелем, навески замораживали и хранили при -21°C. Липиды экстрагировали по методу Николса [6] изопропанолом, дезактивирующим фосфолипазы, разделяли при помощи двумерной (полярные липиды) или одномерной (нейтральные липиды) ТСХ [7,8] и проводили количественный анализ с использованием стандартных соединений методом денситометрии (программное обеспечение DENS). Растворимые углеводы и полиолы цитозоля экстрагировали кипящей водой, белки и заряженные соединения удаляли [9], получали триметилсилильные производные, которые анализировали методом ГЖХ с внутренним стандартом [10].

При поверхностном культивировании на суловом агаре с оптимальным рН 4.0 гриб образует стерильные колонии бежевого цвета, правильной формы, круглые, плоские, с ровным краем. Спорообразование не обнаружено. Исследование скорости роста в зависимости от рН среды, температуры и концентрации NaCl показало, что он является облигатным ацидофилом, имеющим узкий диапазон оптимального роста при рН 3.0–4.0, температуре 20–27°C, на бессолевой среде.

Осмолитная система гриба представлена, в основном, сахарами и полиолами. В динамике роста при оптимальных условиях основными осмолитами *S. brinkmannii* являются трегалоза, маннит и глюкоза, общее количество углеводов и полиолов в процессе роста мало изменяется и составляет около 8% от сухой биомассы. При этом доля трегалозы с возрастом увеличивается с 50 до 75% от суммы, тогда как неэкстремофильные грибы содержат следовые количества трегалозы. Поскольку трегалоза является единственным осмолитом, способным стабилизировать не только макромолекулы, но и мембраны клетки, можно предположить, что она необходима для защиты цитоплазматической мембраны, контактирующей с агрессивной кислой средой. По сравнению с оптимальными условиями (рН 4.0) выращивание гриба при пограничных значениях рН (2.6 и 6.0) приводит к снижению количества углеводов и полиолов 2–2.5 раза, при этом трегалоза и маннит остаются основными компонентами.

Состав мембран ацидофильного гриба *S. brinkmannii* отличается от изученных нами ранее экстремофилов (термофилов, галофилов, алкалофилов, ксерофилов): сфинголипиды (СЛ) доминируют наряду с фосфатидилэтаноламинами (ФЭ) и ФК, тогда как у других экстремофилов СЛ являются, как правило, минорным компонентом. При этом один из основных бислойных фосфолипидов грибов — фосфатидилхолин (ФХ) присутствует в минорном ко-

личестве. В 6-суточной культуре изучаемого ацидофила доля СЛ в составе мембранных липидов достигает 60% от суммы, снижаясь в 2 раза к 18-м суткам, на фоне увеличения долей небислойных липидов — ФЭ и ФК. Полагают, что способность ФК к агрегации приводит к образованию микромонов, участвующих в формировании изгибов мембран, что является первой стадией образования везикул, которые могут участвовать в транспорте из аппарата Гольджи и ЭПР, эндо- и экзоцитозе. Состав мембранных липидов в кислых условиях рН 2.6 и 4.0 не различается, но увеличение рН до 6.0 приводит к двукратному возрастанию доли СЛ, что указывает на их роль в адаптации. Это согласуется с литературными данными о том, что гликолипиды, имеющие гликозидные группы, способны стабилизировать мембраны наряду с трегалозой [11].

Таким образом, на примере гриба *S. brinkmannii* впервые показано, что ацидофилы могут использовать осмолитную систему, а именно осмолит трегалозу, для адаптации к кислым условиям среды. В составе мембранных липидов показано высокое содержание сфинголипидов, способных стабилизировать мембраны. В динамике роста доля сфинголипидов снижается, на фоне увеличения уровня трегалозы, что указывает на взаимосвязь этих соединений в защите мембран.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 22-74-00040, <https://rscf.ru/project/22-74-00040/>

Список литературы

1. Ianutsevich EA, Danilova OA, Groza NV, Kotlova ER, Tereshina VM. Heat shock response of thermophilic fungi: membrane lipids and soluble carbohydrates under elevated temperatures. *Microbiology* 2016;162:989–99. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000279>.
2. Bondarenko SA, Ianutsevich EA, Danilova OA, Grum-Grzhimaylo AA, Kotlova ER, Kamzolkina OV, et al. Membrane lipids and soluble sugars dynamics of the alkaliphilic fungus *Sodiomyces tronii* in response to ambient pH. *Extremophiles* 2017;21:743–54. <https://doi.org/10.1007/s00792-017-0940-4>.
3. Kozlova MV, Ianutsevich EA, Danilova OA, Kamzolkina OV, Tereshina VM. Lipids and soluble carbohydrates in the mycelium and ascospores of alkaliphilic fungus *Sodiomyces alkalinus*. *Extremophiles* 2019;23:487–94. <https://doi.org/10.1007/s00792-019-01100-z>.
4. Терёшина ВМ, Меморская АС, Котлова ЕР. Влияние различных тепловых воздействий на состав мембранных липидов и углеводов цитозоля у мицелиальных грибов. *Микробиология* 2011;80:447–53.
5. Yanutsevich EA, Memorskaya AS, Groza NV, Kochkina GA, Tereshina VM. Heat shock response in the thermophilic fungus *Rhizomucor miehei*. *Microbiology* 2014;83:498–504. <https://doi.org/10.1134/S0026261714050282>.
6. Nichols BW. Separation of the lipids of photosynthetic tissues: Improvements in analysis by thin-layer chromatography. *Biochim Biophys Acta - Spec Sect Lipids Relat Subj* 1963;70:417–22. [https://doi.org/10.1016/0926-6542\(63\)90060-X](https://doi.org/10.1016/0926-6542(63)90060-X).
7. Benning C, Huang ZH, Gage DA. Accumulation of a novel glycolipid and a betaine lipid in cells of *Rhodobacter sphaeroides* grown under phosphate limitation. *Arch Biochem Biophys* 1995;317:103–11. <https://doi.org/10.1006/abbi.1995.1141>.
8. Kates M. Techniques of Lipidology: Isolation, analysis and identification of lipids. In: Work TS, Work E, editors.

- Lab. Tech. Biochem. Mol. Biol., vol. 3, Amsterdam: North-Holland Publishing Company; 1972, p. 267–610. [https://doi.org/10.1016/S0075-7535\(08\)70544-8](https://doi.org/10.1016/S0075-7535(08)70544-8).
9. Somogyi M. Determination of blood sugar. *J Biol Chem* 1945;160:69–73. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)43098-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)43098-0).
10. Brobst KM. Gas–Liquid Chromatography of Trimethylsilyl Derivatives: Analysis of Corn Syrup. In: Whistler RL, BeMiller JN, editors. *Gen. Carbohydr. Method*, New York and London: Academic Press; 1972, p. 3–8. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-746206-6.50008-4>.
11. Yu RK, Koerner TA, Scarsdale JN, Prestegard JH. Elucidation of glycolipid structure by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chem Phys Lipids* 1986;42:27–48.

БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ГРИБЫ: ПРОИСХОЖДЕНИЕ, СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ

Камзолкина О.В., Мажейка И.С.

Биологический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова

Биолюминесценция – это природное явление, проявляющееся в испускании света живыми организмами в результате реакции окисления субстрата люциферина в присутствии фермента люциферазы, либо же реакция люциферина с фотопротеинами, которые, иногда рассматривают как подкласс люцифераз (Wilson, Hastings, 1998). Биолюминесценция у грибов определяется наличием в геноме кластера генов, отвечающих за синтез люциферина и люциферазы (Kotlobay et al., 2018). Биолюминесцентные грибы из порядка *Agaricales* представляют собой независимую ветвь среди биолюминесцентных организмов на древе жизни, однако разнообразие, эволюционная история и время возникновения грибных люцифераз остается неясным (Ke et al., 2020). Секвенирование геномов пяти видов рода *Muscena* показало, что биолюминесценция эволюционировала от общего предка *Muscena spp.*, и маразмийная клада *Agaricales* сохранялась на протяжении как минимум 160 миллионов лет. Анализ показал, что виды рода *Muscena* имеют «two-speed» геномы, кластер люциферазы сформирован путем дублирования и транслокаций в геноме. Он подвергался перестраиванию и терялся у большинства видов *Muscena*, но сохранился в линии *Armillaria*. Члены кластера люциферазы видов *Muscena* коэкспрессируются на разных стадиях развития, с максимальной экспрессией в шляпках и ножках плодовых тел, что свидетельствует об адаптивных функциях, связанных с плодоношением (Ke et al., 2020).

На данный момент известно 108 видов биолюминесцентных грибов, причем все они относятся к порядку *Agaricales* отдела *Basidiomycota* (Desjardin et al., 2008; Chew et al., 2015; Mihail, 2015; Chang et al., 2020). Они испускают зеленый свет с максимумом в диапазоне 520–530 нм, образуют макроскопические плодовые тела, распространены преимущественно в тропических широтах и являются ксилотрофами. Светиться может только мицелий, либо и мицелий, и плодовые тела/их части (Desjardin et al., 2008; Stevani et al., 2013). Они вызывают белую гниль, за счет секреции внеклеточных ферментов, способных расщеплять лигнин (Stevani et al., 2013). Среди исследователей нет единого мнения по поводу биологической функции свечения грибов. Есть доказательства того, что биолюминесценция может использоваться грибами для привлечения насекомых, распространяющих споры грибов (Oliveira et al., 2015). Одна из гипотез предполагает, что биолюминесценция у грибов связана с процессами детоксикации перекисей, образующихся в ходе деградации лигнина (Bermudes et al., 1992; Desjardin et al., 2008), а также защищает от активных форм кислорода, продуцируемых митохондриями при ды-

хания (Desjardin et al., 2005). Сравнение метаболизма грибов бурой и белой гнили выявляет определенное различие в метаболических путях, связанных с деградацией лигноцеллюлозного субстрата. Так, например, различия обнаружены в фенилаланин-циннаматном пути (Shimada et al., 1992). У грибов белой гнили фенилаланин через ряд стадий (в том числе формирования кофеиновой кислоты, предшественника люциферина) превращается в вератриловый спирт, а «лигниназа» катализирует расщепление С α -С β вератрилглицерина с образованием гликолевого альдегида и вератральдегида. У представителя бурой гнили фенилаланин превращается в метил-р-анисат (Shimada et al., 1992). Можно предположить, что метаболические пути биолюминесценции у грибов непосредственно связаны с метаболическими путями деградации лигнина.

Цитологические основы биолюминесценции грибов ранее не изучали, однако известно, что грибная люцифераза является мембраносвязанным белком (Desjardin et al., 2008). Также было показано, что эндомембранные структуры образуют органы люминесценции у водорослей, насекомых, и, возможно, у некоторых других организмов (Sweeney, 1980).

В данной работе мы использовали мицелий 7 штаммов видов из порядка *Agaricales*. Биолюминесцентные виды (*Neonothopanus nambi*, *Omphalotus olearius*, *Panellus luminescens*, *Panellus stipticus*) и неболюминесцентные (*Lentinula edodes*, *Panellus serotinus*, *Panellus stipticus*). Мицелий выращивали на целлофане, образцы отбирали из зоны роста. Фиксировали и заливали в эпоновую смолу (Матросова и др., 2009).

В целом «клетки» мицелия всех штаммов окружены одно-двухслойными клеточными стенками (КС) с фибриллярным полисахаридным чехлом (толщина КС до 100 нм). Гифы имеют все органеллы, характерные для эукариот: ядра, митохондрии, у некоторых пероксисомы, очень развитую и разнообразную мембранную систему (ломасомы, миеліноподобные структуры, морфологически разнообразную вакуолярную систему, везикулы, эндоплазматический ретикулум, мультивезикулярные тела), представленную в разной степени у разных штаммов. Клетки мицелия разделяют долипоровые септы с перфорированными парентосомами, характерными для агарикоидных базидиомицетов. В гифах накапливаются запасные включения (полифосфаты, гликоген и липиды), представленные в соотношении которых штаммо- и видоспецифично, а также зависит от возраста мицелия. В цитоплазме локализованы рибосомы (с равномерным или локальным распределением), все органеллы, эндомембраны и запасные вещества. Ядро окруже-

но двумя мембранами с порами, наблюдали полярные тела веретена, хорошо заметные во время митоза.

Практически для всех штаммов характерен тонкий мицелий (менее 1 мкм в диаметре). Отметим некоторые различия между светящимися и несветящимися штаммами грибов. Для светящегося штамма *P. stipticus* 4431 характерно возрастание процессов аутофагии в 6-ти суточном мицелии, в то время как в мицелии несветящегося штамма 4047 аутофагию наблюдали на более поздние сроки роста (9-е сутки роста). В мицелии светящегося штамма происходит накопление полифосфатных включений (ПФ) с возрастом. Особенно крупные включения встречаются в вакуолях на 9-е сутки роста. Несветящийся штамм на более поздние сроки роста содержит меньше включений в вакуолях, то есть не накапливает ПФ. Для гиф светящегося штамма характерны длинные цистерны гладкого эндоплазматического ретикулаума (ГЭР) (длиной более 10 мкм), в то время как для несветящегося штамма 4047 наблюдали стопки цистерн шероховатого эндоплазматического ретикулаума (ШЭР) и одиночные короткие цистерны ГЭР по периферии клетки. Межвидовое сравнение (*P. luminescens* и *P. serotinus*) показало те же особенности, касающиеся ГЭР, характерные для светящегося штамма *P. stipticus* 4431, описанные выше. Возрастное накопление гликогена характерно для светящегося вида *P. luminescens*. Сравнение ультраструктуры мицелия разных родов и видов внутри семейства *Omphalotaceae* выявило сходную структуру мицелия, описанную для штаммов одного вида и разных видов одного рода. Для светящихся штаммов характерна большая представленность аутофагии в молодых гифах. Изменения ультраструктуры касаются и распределения рибосом в цитоплазме: у светящихся штаммов разных видов (*N. nambi*, *O. olearius*) рибосомы располагаются локально в цитоплазме, а у несветящегося штамма *L. edodes* равномерно. Возможно, это связано с локализацией метаболитов, сопутствующих биолюминесценции, и вполне вероятно, что мембраны ГЭР и ШЭР задействованы в этих процессах.

Проведенное исследование не выявило присутствие новых органелл, характерных для светящихся штаммов агариковых грибов. Однако были обнаружены некоторые особенности в распределении эндоплазматического ретикулаума, аутофагических вакуолей и запасных веществ (полифосфатов и гликогена). Представляется перспективным в дальнейшем дополнить полученные результаты биохимическим анализом и работой с трансформированными штаммами биолюминесцентных грибов для идентификации внутриклеточных мембран.

Выражаем огромную благодарность Псурцевой Н.В. за предоставленные штаммы биолюминесцентных грибов.

Список литературы

1. Wilson T., Hastings J.W. Bioluminescence // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 1998. V. 14. P. 197-230.
2. Kotlobay A.A., Sarkisyan K.S., Mokrushina Y.A. et al. Genetically encodable bioluminescent system from fungi // PNAS. 2018. V. 115. P. 12728-12732.
3. Ke H.-M., Lee H.-H., Lin C.-Y. I. et al. Mycena genomes resolve the evolution of fungal bioluminescence // bioRxiv 2020.05.06.079921; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.06.079921>
4. Desjardin D.E., Oliveira A.G., Stevani C.V. Fungi bioluminescence revisited // Photochem. Photobiol. Sci. 2008. V. 7. P. 170-182.
5. Chew A.L.C., Tan Y.-S., Desjardin D.E. Musa M.Y., Sabaratnam V. Four new bioluminescent taxa of *Mycena* sect. *Calodontes* from Peninsular Malaysia // Mycologia. 2014. V. 106. P. 976-988.
6. Michail J.D. Bioluminescence patterns among North American *Armillaria* species // Fungal biology. 2015. V. 119. P. 528-537.
7. Chang Ch.-Ch., Chen Ch.-Y., Lin W.-W., Kao H.-W. *Mycena jingyinga*, *Mycena luguensis*, and *Mycena venus*: three new species of bioluminescent fungi from Taiwan // Taiwan. 2020. V. 65. P. 396-406.
8. Stevani C.V., Oliveira A.G., Mendes L.F., Ventura F.F., Waldenmaier H.E., Carvalho R.P., Pereira T.A. Current status of research on fungal bioluminescence: biochemistry and prospects for ecotoxicological application // Photochem. Photobiol. Sci. 2013. V. 89. P. 1318-1326.
9. Oliveira A.G., Stevani C.V., Waldenmaier H.E. et al. Circadian control sheds light on fungal bioluminescence // Curr Biol. 2015. V. 25. P. 964-968/
10. Bermudes D., Petersen R.H., Neelson K.H. Low-level bioluminescence detected in *Mycena haematopus* basidiocarp // Mycol. 1992. V. 84. P. 799-802.
11. Desjardin D.E., Capelari M., Stevani C.V. Bioluminescent *Mycena* species from Sao Paulo, Brazil // Fung. Div. 2005. V. 18. P. 317-331.
12. Shimada, M., Ohta, A.; Kurosaka, H. et al. Roles of secondary metabolism of wood rotting fungi in biodegradation of lignocellulosic materials. In the series analytic: Plant cell wall polymers / edited by N.G. Lewis and M.G. Paice" 1992, issue 399. p. 412-425
13. Матросова Е., Мажейка И.С., Кудрявцева О.А., Камзолкина О.В. Морфогенез и ультраструктура митохондрий базидиомицетов рода *Agaricus* и *Pleurotus* // Цитология. 2009. Т. 51. С. 490-99.
14. Sweeney B.M. Intracellular source of Bioluminescence // International review of cytology. 1980. V. 68. P. 173-195.

ВЛИЯНИЕ СТРЕССОРНЫХ ФАКТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ КАТЕХОЛ-1,2-ДИОКСИГЕНАЗЫ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ *LENTINUS EDODES* И *GRIFOLA FRONDOSA*

Лощина Е.А., Купряшина М.А.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН»
(ИБФРМ РАН)

Базидиальным грибам, как и другим живым организмам, на протяжении всего своего жизненного цикла необходимо адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды. Предполагается, что к числу метаболитов, принимающих участие в процессах защиты грибной клет-

ки от стрессовых факторов, относятся различные фенол-кисляющие ферменты, но данный вопрос до сих пор остается малоисследованным. Доксигеназы – это ферменты класса оксигеназ, катализирующие реакции, при которых в молекулу органического субстрата включаются оба ато-

ма молекулы кислорода [1]. Эти ферменты играют важную роль в метаболизме важнейших соединений живых организмов, включая аминокислоты, углеводы, липиды, нуклеиновые кислоты, витамины и гормоны. Также диоксигеназы принимают участие в деградации микроорганизмами различных соединений природного и антропогенного происхождения, и поэтому представляют большой интерес для экологов.

Катехолдиоксигеназы относятся к негемовым железосодержащим диоксигеназам и расщепляют кольцо катехола, встраивая в молекулу два атома кислорода. В зависимости от механизма расщепления кольца их подразделяют на интрадиольные и экстрадиольные диоксигеназы [1–3]. Наиболее изученным ферментом первой группы является катехол-1,2-диоксигеназа (пирокатехаза), катализирующая расщепление ароматического кольца катехола с образованием *cis,cis*-муконовой кислоты. Синтез грибными культурами катехолдиоксигеназ до сих пор остается малоизученным [4]. В последнее время диоксигеназы начали привлекать повышенное внимание исследователей в связи с большим потенциалом для использования в биоремедиации природных районов, загрязненных различными ароматическими ксенобиотиками [5]. При этом большой интерес представляют интрадиольные диоксигеназы, поскольку деградация ароматических соединений путем мета-расщепления часто приводит к накоплению более токсичных промежуточных соединений. Недостаточная исследованность диоксигеназ у грибов, в частности, в съедобных и лекарственных базидиомицетов, выращиваемых в искусственной культуре, делает эти организмы важным объектом для исследования данной группы ферментов.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы явилось изучение влияния абиотических (температурного стресса, голодания по углероду и/или азоту) и биотических факторов (совместного культивирования с ассоциативными бактериями рода *Azospirillum*) на активность катехол-1,2-диоксигеназы ксилотрофных базидиомицетов *Lentinus edodes* и *Grifola frondosa*.

В настоящей работе были использованы культуры базидиальных грибов *L. edodes* (Berk.) Pegler, штамм F-249 и *G. frondosa* (Dicks.) Gray, штамм 0917. Для изучения совместного культивирования *L. edodes* с ассоциативными микроорганизмами в работе были использованы бактерии *Azospirillum brasilense*, штамм Sp7. Базидиомицеты выращивали при 26°C в темноте в условиях жидкофазного

погруженного культивирования на синтетических среде с 9 г/л глюкозы и 1.5 г/л L-аспарагина (контроль). В качестве абиотических стрессорных факторов использовали тепловой и холодовой шок и культивирование на обедненных средах с 0.9 г/л глюкозы и 1.5 г/л L-аспарагина (среда 1), 9 г/л глюкозы и 0.15 г/л L-аспарагина (среда 2), 0.9 г/л глюкозы и 0.15 г/л L-аспарагина (среда 3). Спектрофотометрические измерения проводились на планшетных фотометрах Spark-10M («Tecan», Швейцария) и *Multiskan Ascent* («ThermoLabsystems», Финляндия) в Центре коллективного пользования (ЦКП) научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии «Симбиоз» Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН). Активность катехол-1,2-диоксигеназы (ЕС 1.13.11.1) в образцах *L. edodes* и *G. frondosa* определяли спектрофотометрически при 260 нм по скорости образования *cis,cis*-муконовой кислоты [6]. Содержание белка в образцах мицелия и культуральных жидкостей базидиомицетов определяли по методу Бредфорд [7].

Иницируемое фенолдиоксигеназами расщепление ароматического кольца является ключевым шагом в деградации ароматических соединений микроорганизмами. Несмотря на то, что грибы остаются сравнительно мало исследованными по сравнению с бактериями в плане синтеза этих ферментов, наличие интрадиольных диоксигеназ к данному моменту обнаружено у ряда грибных культур, включая базидиомицеты. Мы выявили наличие пирокатехазной активности в образцах глубинных культур *L. edodes* и *G. frondosa*. Практически во всех образцах и при всех исследованных стрессовых условиях активность катехол-1,2-диоксигеназы повышалась по сравнению с контрольным вариантом опыта. Удельная активность катехол-1,2-диоксигеназы в составе культуральной жидкости (рис. 1) и мицелия *L. edodes* (рис. 2) увеличивалась практически при всех исследованных стрессовых условиях. В культуральной жидкости это увеличение наиболее сильно (в 3,5-4 раза) проявилось в двойной культуре и на среде, обедненной по углеводу и азоту, а в мицелии – при температурном стрессе, в двойной культуре и в меньшей степени на обедненных средах. Некоторое снижение активности пирокатехаза по сравнению с контролем наблюдалось только в культуральной жидкости на бедной по углероду среде.

Рис. 1 – Активность катехол-1,2-диоксигеназы в культуральной жидкости *L. edodes*

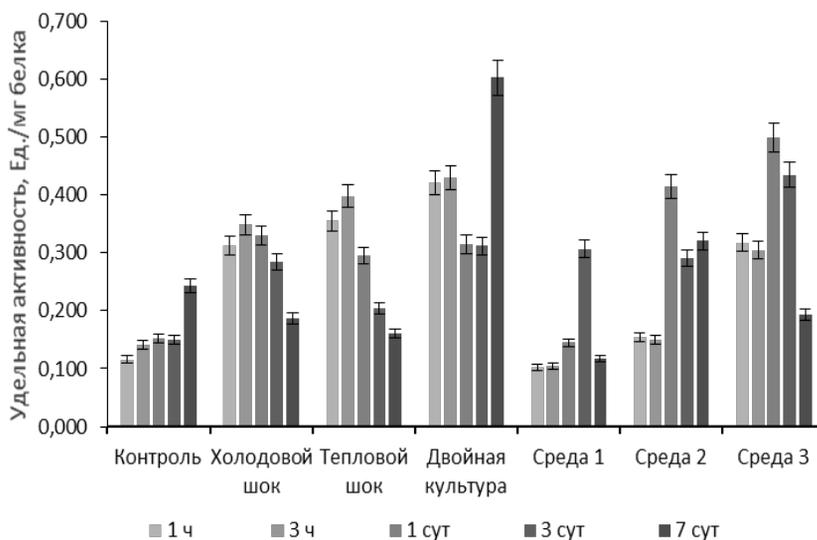
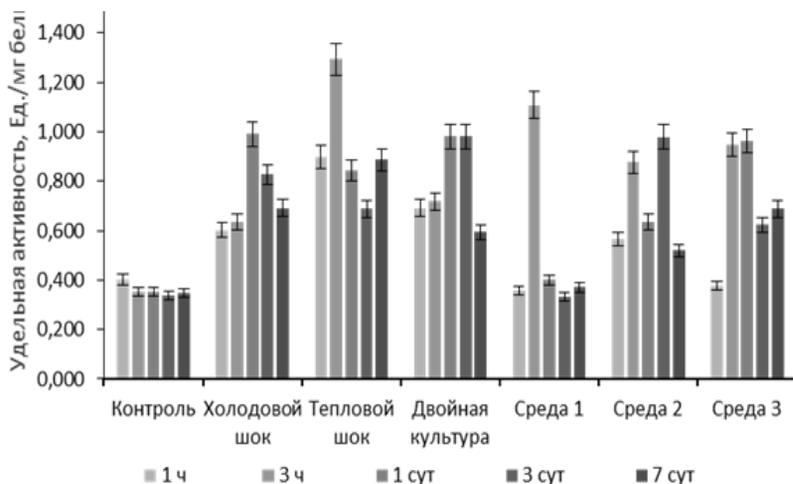


Рис. 2 – Активность катехол-1,2-диоксигеназы в мицелии *L. edodes*



В культуральной жидкости *G. frondosa* пирокатехазная активность наиболее сильно возрастала при температурном шоке и на обедненных средах, а при совместном выращивании с азоспириллой практически не изменялась (рис. 3). Через 1 сут культивирования на средах, обедненных только по углероду и по углероду и азоту, активность катехол-1,2-диоксигеназы *G. frondosa* увеличивалась в

3-3,5 раза по сравнению с контролем, а при температурном стрессе – в 2,5-3 раза. В мицелии *G. frondosa* активность катехол-1,2-диоксигеназы в наибольшей степени возрастала при низкотемпературном стрессе (до 6 раз), тогда как остальные стрессовые условия влияли на активность в меньшей степени (рис. 4).

Рис. 3 – Активность катехол-1,2-диоксигеназы в культуральной жидкости *G. frondosa*

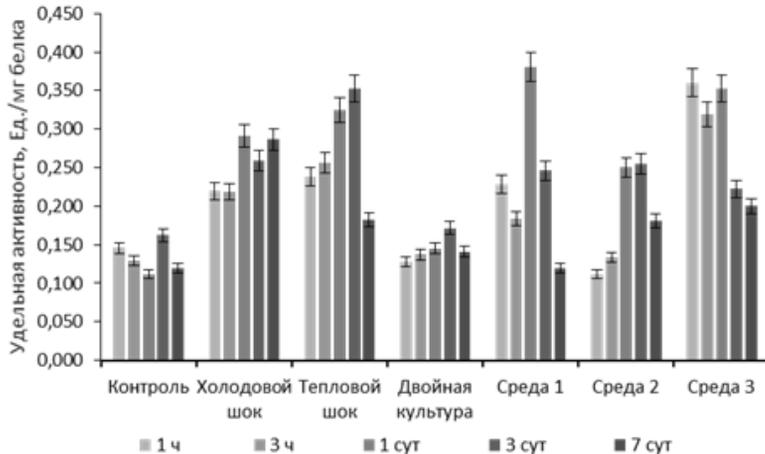
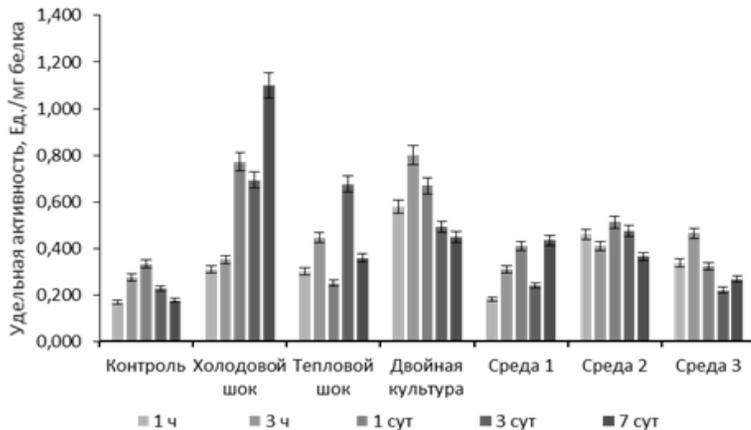


Рис. 4 – Активность катехол-1,2-диоксигеназы в мицелии *G. frondosa*



Активация ферментов при воздействии стрессоров может указывать на участие этой ферментной системы в защитных процессах, протекающих в мицелии под влиянием негативных условий окружающей среды.

Таким образом, мы показали наличие катехол-1,2-диоксигеназной активности у глубоких культур ксилотрофных базидиомицетов *L. edodes* и *G. frondosa*. Удельная активность фермента в мицелии и культуральной жидкости базидиомицетов повышалась под влиянием абиотических (холодовой и тепловой шок, голодание по углероду и/или азоту) и биотических факторов (совместное культивирование с ассоциативными бактериями рода *Azospirillum*). Наиболее сильное влияние на активность катехол-1,2-катехолдиоксигеназы базидиомицетов оказал температурный стресс. Исследование фенолдиоксигеназ грибных культур представляет не только важное теоретическое значение для углубленного понимания метаболических процессов, протекающих в грибной клетке при формировании защитного ответа на стрессовые воздействия, но и имеет практическую значимость, поскольку эти ферменты обладают большим потенциалом для использования при биоремедиации территорий, загрязненных фенольными поллютантами, и для утилизации промышленных отходов.

НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА ГРИБНЫЕ ЛОМАСОМЫ И ДРУГИЕ ИНВАГИНАЦИИ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ

Список литературы

1. Hayaishi O., Nozaki M., Abbott M.T. 3 Oxygenases: Dioxygenases // In: The enzymes. Vol. 12. Academic Press. 1975. P. 119–189.
2. Wright J.D. Fungal degradation of benzoic acid and related compounds // World journal of microbiology and biotechnology. 1993. V. 9, № 1. P. 9–16.
3. Krastanov A., Alexieva Z., Yemendzhiev H. Microbial degradation of phenol and phenolic derivatives // Engineering in Life Sciences. 2013. V. 13, № 1. P. 76–87.
4. Lubbers R.J., Dilokpimol A., Visser J., Mäkelä M.R., Hildén K.S., de Vries R.P. A comparison between the homocyclic aromatic metabolic pathways from plant-derived compounds by bacteria and fungi // Biotechnology advances. 2019. V. 37, № 7. P. 107396.
5. Guzik U., Hupert-Kocurek K., Wojcieszynska D. Intradiol dioxygenases – the key enzymes in xenobiotics degradation // Biodegradation of hazardous and special products. 2013. V. 7. P. 129–53.
6. Nakazawa T., Nakazawa A. [64] Pyrocatechase (pseudomonas) // In: Methods in enzymology. Academic Press. 1970. V. 17. P. 518–522.
7. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal Biochem. 1976. V. 72. P. 248–258.

Мажейка¹ И.С., Мажейка² К.И., Камзолкина¹ О.В.

¹Биологический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова

²Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева, Москва

Начиная с середины 20-го века микологи обнаруживают в электронно-микроскопических препаратах грибных клеток крупные пристеночные мембранные структуры (Girbardt, 1958). Такие внутриклеточные структуры имеют сложное и разнообразное строение: могут состоять из множества везикул или иметь ламеллярную природу, или сочетать в себе разные типы мембран (Heath, Greenwood, 1970; Brushaber, Jenkins, 1971; Marchant, Moore, 1973). Особенно богаты подобными структурами клетки ксилотрофных базидиомицетов. В литературе встречаются различные названия для описываемых мембранных образований, но наиболее прижившимся можно считать термин «ломасомы» (Marchant, Moore, 1973; Mazheika, Kamzolkina, 2021). Природа ломасом и их функции не известны. Однако наиболее вероятно, что большинство ломасом являются инвагинациями цитоплазматической мембраны грибов. В предыдущей работе нами предположено участие ломасом в так называемом макровезикулярном эндоцитозе (Mazheika, Kamzolkina, 2021).

Грибной эндоцитоз (микровезикулярный эндоцитоз) активно изучают последние два десятка лет (Read, Kalkman, 2003; Penalva, 2010; Commer, Shaw, 2020). В основном его связывают с субапикальным кольцом в апикальных клетках гиф, но нами и другими исследователями показано наличие эндоцитоза и в неапикальных клетках мицелия (Lee et al., 2007; Mazheika et al., 2020a, b). С помощью стирильных флюорофоров (FM4-64, AM4-64) у мицелиальных грибов и

дрожжей прослеживают эндоцитозный путь от первичных везикул до вакуолей-лизосом (Epp et al., 2013; Penalva, 2005).

Очевидно, что строение, механизм формирования, способность к отшнуровке от плазмалеммы (макроэндоцитоз) ломасом, а также дифференцирование их от эндомембранных структур требуют глубокого изучения. И для такого изучения необходимо использование иных методов кроме электронной микроскопии. Необходимо получение грибных трансформантов с экспрессией в одной рамке флюоресцентных меток и маркерных белков, характерных для той или иной мембранной структуры (плазмалеммы, эндосом, вакуолей, аутофагосом и т.д.). И проведение детального флюоресцентно-микроскопического анализа вкупе с электронной микроскопией, но не с получением статичных фотографий в единичных фокусных срезах, а с изучением в динамике и в объеме клетки. Генетическое маркирование мембранных структур – следующий шаг в исследовании ломасом. Цель данного исследования – анализ динамики формирования крупных инвагинаций плазмалеммы (time-lapse технология) и объемная реконструкция инвагинаций (Z-stack технология) с мечением стирильным флюорофором. Использование time-lapse и Z-stack технологий позволило рассмотреть проблему грибных ломасом и других инвагинаций плазмалеммы с совершенно нового ракурса.

В настоящей работе использованы флюоресцентный эндоцитозный маркер AM4-64, флюоресцентные метки для вакуолей и липидных капель: CFDA и Nile Red, соответственно. Ксилотрофный базидиомицет *Stereum hirsutum*

(Willd.) Pers. наращивали на плотной среде Чапека на целлофане. Препараты для флюоресцентной микроскопии готовили в различных вариантах: с прединкубацией и без мицелия в жидкой среде Чапека, с заполнением препарата средой Чапека, средой Чапека с сорбитолом, водой, средой с латрункулином А (ингибитор сборки актиновых филаментов) и т.д. Для микроскопии, для получения последовательных снимков (time-lapse фотографирование) и серийных фокусных срезов (Z-stack фотографирование) использовали моторизованный микроскоп Imager M1 (Zeiss).

В результате исследования выделены три группы крупных инвагинаций (размером более 100 нм) цитоплазматической мембраны у *S. hirsutum* и других дереворазрушающих базидиомицетов. К первой группе относятся инвагинации, не имеющие просвета на уровне флюоресцентной микроскопии. Группа включает клубочки (здесь и далее названия разным типам инвагинаций присвоены в данной работе и в литературе ранее не использованы) – глобулярные структуры с АМ4-64-сигналом, прижатые к плазмалемме. Висюльки – аналогичны клубочкам, но находятся и двигаются в толще цитоплазмы, прикреплены к определенной точке цитоплазматической мембраны тонким перешейком. Бляшки – уплощенные структуры, прижатые к плазмалемме. Количество клубочков и висюлек может достигать 40 тысяч единиц в пересчете на 1000 межклеточных септ. Их количество возрастает, если мицелий прединкубировать в жидкой среде перед микроскопией, а также в гипертоничных условиях (в среде с сорбитолом) и при разрушении актинового цитоскелета. Есть time-lapse видео, демонстрирующее отсоединение висюлек от плазмалеммы и увлечение их потоком цитоплазмы вдоль гифы.

Вероятно, количество инвагинаций плазмалеммы в мицелии, растущем на плотном субстрате с ограниченным количеством влаги (например, чашка Петри с агаризированной средой и целлофаном сверху), не велико. Ускорение формирования инвагинаций происходит при погружении мицелия в жидкую среду, что связано с изменением натяжения цитоплазматической мембраны из-за тургорных и цитоскелетных изменений (см. шторовая модель в публикации Mazheika et al., 2020b). Наиболее вероятно, что именно клубочки, висюльки и бляшки являются ломасомами. Мы предполагаем, что данные инвагинации формируются путем впячивания нитевидных трубок (тоньше 100 нм в диаметре) или тонких пластин, которые затем внутри клетки сворачиваются в клубок или в миеловидные ломасомы.

Ко второй группе инвагинаций относятся структуры с просветом, но не превышающем на уровне флюоресцентной микроскопии диаметра (в поперечном сечении в случае трубок) примерно 500 нм. Группа включает маленькие везикулы и тонкие трубки. Маленькие везикулы могут быть пристеночными или располагаться в толще цитоплазмы, могут хаотично двигаться вблизи определенного участка плазмалеммы. Реконструкция Z-стеков демонстрирует, что многие маленькие везикулы являются не чем иным, как поперечными оптическими срезами через тонкие трубки, расположенные поперек клетки. Есть видео, показывающие, чтодвигающиеся везикулы также представляют собой оптические срезы через изогнутые тонкие трубки. Тонкие трубки, не расположенные поперек грибной клетки, могут быть перпендикулярны плазмалемме, или тянуться вдоль грибной клетки в толще цитоплазмы или прижатыми к цитоплазматической мембране. Такие трубки могут быть извитыми и прямыми, могут быть статичны или свободный конец их хаотично перемещаться. Длина тонкой трубки может достигать нескольких десятков микрометров. Ма-

ленькие везикулы образуются сразу после приготовления препарата и их динамика и поведение похожи на таковые у клубочков. Продольные клетке тонкие трубки формируются в препаратах позже, на их образование не действует латрункулин А (в отличие от клубочков и маленьких везикул).

Третья группа инвагинаций представлена большими везикулами и толстыми трубками (диаметр везикулы или сечения трубки больше 500 нм). Такие инвагинации появляются в препаратах не ранее чем через 20 минут после приготовления препарата. Мы предполагаем, что большие везикулы и толстые трубки (а также продольные тонкие трубки) формируются в грибных клетках в ответ на определенные условия, создаваемые в микроскопическом препарате (тонкий слой жидкости, быстрое подсыхание, механический стресс). Что, однако, не дает основания присваивать им только артефактную природу – в нативных условиях возможны схожие воздействия и ответное образование инвагинаций. Большие везикулы и толстые трубки статичны. Их количество также возрастает при прединкубации в жидкой среде и в гиперфазе. Латрункулин не влияет на их образование, а гипотония (вода вместо среды Чапека) снижает их количество.

Самый главный вывод настоящего исследования – все или большинство макроинвагинаций цитоплазматической мембраны у грибов имеют тубулярную природу (либо ламеллярную). Ломасомы – это свернутые нитевидные трубки или ламеллы, остальные инвагинации – прямые или изогнутые трубки разной длины и толщины более 100 нм. Такой механизм формирования крупных инвагинаций хорошо согласуется со шторовой моделью: и при тургорной, и при актиновой регуляции натяжения плазмалеммы, втянуть внутрь клетки мембрану в виде трубки проще и безопаснее, чем сразу в виде крупной везикулы. Другой важный вывод: использование видео и объемных реконструкций показало, что описываемый ранее нами и другими исследователями эндоцитозный путь (первичные везикулы – эндосомы – вакуоли-лизосомы) на основании анализа статичных фотографий с единичными фокусными срезами не корректен. Большинство структур, принимаемых за эндосомы и вакуоли, являются инвагинациями плазмалеммы – маленькими и большими везикулами. Настоящие эндосомы, видимо, сложно обнаружить без генетического мечения, а вакуоли-лизосомы встречаются реже, чем мы предполагали ранее. АМ4-64 сигнал от вакуолей-лизосом, возможно, слабый, и/или расположены они в более базальных клетках колонии. Третий вывод: макровезикулярный эндоцитоз (отшнуровка внутрь клетки ломасом) существует, однако он носит нерегулярный и специфический характер.

Очевидно, что преобразования цитоплазматической грибной мембраны, ее инвагинации, эндоцитоз – фундаментальные физиологические процессы, влияющие на рост, питание, патогенность грибов. Необходимо масштабное изучение механизмов, в том числе, молекулярных, регулирования натяжения цитоплазматической мембраны и формирования крупных инвагинаций у мицелиальных грибов, выяснение функций таких инвагинаций. Такие исследования будут иметь важное значение как для теоретических, так и прикладных аспектов микологии и фитопатологии.

Список литературы

1. Girbardt, M., 1958. Über die Substruktur von *Polystictus versicolor* L. Arch. Mikrobiol. 28, 255–269.

2. Heath, I.B., Greenwood, A.D., 1970. The structure and formation of lomasomes. *J. Gen. Microbiol.* 62, 129–137.
3. Brushaber, J.A., Jenkins, S.F., 1971. Lomasomes and vesicles in *Poria monticula*. *Can. J. Bot.* 49, 2075–2079.
4. Marchant, R., Moore, R.T., 1973. Lomasomes and plasmalemmasomes in fungi. *Protoplasma* 76, 235–247.
5. Mazheika, I.S., Kamzolkina, O.V., 2021. Does macrovesicular endocytosis occur in fungal hyphae? *Fungal Biology Reviews*, 38, 1–8.
6. Read, N.D., Kalkman, E.R., 2003. Does endocytosis occur in fungal hyphae? *Fungal Genet. Biol.* 39, 199–203.
7. Penalva, M.A., 2010. Endocytosis in filamentous fungi: cinderella gets her reward. *Curr. Opin. Microbiol.* 13, 684–692.
8. Commer, B., Shaw, B.D., 2021. Current views on endocytosis in filamentous fungi. *Mycology* 12, 1–9.
9. Lee M.T., Szeto C.Y., Ng T.P., Kwan H.S., 2007. Endocytosis in the shiitake mushroom *Lentinula edodes* and involvement of GTPase LeRAB7. *Eukaryot. Cell.* 6, 2406–2418.
10. Mazheika, I., Voronko, O., Kudryavtseva, O., Novoselova, D., Pozdnyakov, L., Mukhin, V., et al., 2020a. Nitrogen-obtaining and -conserving strategies in xylotrophic basidiomycetes. *Mycologia* 112, 455–473.
11. Mazheika, I., Voronko, O., Kamzolkina, O., 2020b. Early endocytosis as a key to understanding mechanisms of plasma membrane tension regulation in filamentous fungi. *Biol. Cell* 112, 409–426.
12. Epp, E., Nazarova, E., Regan, H., Douglas, L.M., Konopka, J.B., Vogel, J., et al., 2013. Clathrin- and Arp2/3-independent endocytosis in the fungal pathogen *Candida albicans*. *MBio* 4, e00476–13.
13. Penalva, M.A., 2005. Tracing the endocytic pathway of *Aspergillus nidulans* with FM4-64. *Fungal Genet. Biol.* 42, 963–975.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НИЗКОЧАСТОТНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ С ЧАСТОТОЙ ШУМАНОВСКОГО РЕЗОНАНСА 14,3 ГЦ НА ХАРАКТЕР ПРОРАСТАНИЯ МИЦЕЛИЯ МИКРОМИЦЕТА *TRICHODERMA VIRIDAE*

*Миенская Н.С., Чуркина Л.М., Кононова У.А., Ларина М.В., Григорьева Т.М., Синицына Ю.В.,
Кальясова Е.А.*

ННГУ им. Н.И. Лобачевского

В последнее время активно проводятся исследования по изучению влияния естественных низкочастотных электромагнитных полей (ЭМП) на живые системы. Для геомагнитного поля характерно образование стоячих электромагнитных волн низких и сверхнизких частот между поверхностью Земли и ионосферой, называемое резонансом Шумана. В Нижегородской области он проявляется в виде отчетливых пиков, при этом максимальными амплитудами обладают первая (7,8 Гц), вторая (14,3 Гц) и третья его гармоники (20,8 Гц). В настоящий момент имеются отдельные разрозненные данные о том, что живые системы в ходе эволюции могли приобрести способность воспринимать такие поля и реагировать изменением физиолого-биохимического состояния. В основном, в литературе представлены результаты, посвященные изучению влияния ЭМП частот Шумановского резонанса на бактерии, растения и млекопитающих, однако в литературе не представлено подобной информации о микромицетах. Вместе с тем, группа микромицетов широко распространена в окружающей среде и ее представители выполняют разнообразные биолого-экологические функции. *Trichoderma viridae* является характерным микромицетом-почвообитателем в средней полосе России, широко используется для проведения микробиологических исследований.

Целью работы являлась исследование чувствительности микромицета *Trichoderma viridae* к магнитному полю с частотой второй гармоники Шумановского резонанса.

Выявление и оценку чувствительности проводили по наличию и характеру изменений ростовых и морфологических характеристик колонии гриба.

Экспериментальная установка представляла собой соленоид диаметром 34 мм с генератором сигналов Rigol DG1062Z 60 MHz Function/Arbitrary Waveform Generator. Установка создавала переменное магнитное поле частотой 14,3 Гц, совпадающей со второй гармоникой резонанса Шумана, индукцией 34,5 мкТл. Штамм *T. viridae* F-2113 был получен из всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ). Твердую полную питательную среду Чапека-Докса наносили тонким слоем с помощью дозатора в чашку Петри (d = 30 мм). На застывшую среду наносили 10 мкл суспензии спор. Чашку Петри помещали в соленоид и располагали на предметном столике микроскопа таким образом, чтобы капля с суспензией в чашке Петри была в подвешенном состоянии. Контрольную группу микромицетов не подвергали действию экспериментального магнитного поля. Геомагнитное поле не экранировали. Снятие результатов производили через 11, 13, 15, 17 и 19 часов культивирования. Результаты фиксировали при помощи фотосъемки. Отмечали процент проросших спор и количество ветвлений гифы на спору.

Прорастание спор, обработанных ЭМП с частотой 14,3 Гц протекало активнее, чем в контрольной группе (табл. 1).

Таблица 1
Оценка прорастания спор

Время культивирования	Процент проросших спор, %	
	Контроль	Опыт
11 часов	18,0 ± 2,55	28,0 ± 7,40
13 часов	56,0 ± 6,54	75,0 ± 3,79 *
15 часов	89,9 ± 3,66	89,3 ± 3,00

* - статистически значимое отличие значений опыта от контроля.

При этом статистически значимое различие в прорастании спор наблюдалось только через 13 часов культивирования - процент проросших спор в опыте на 19% превышал значения контроля. Через 15 часов культивирования процент проросших спор между контрольными и опытными образцами выравнивался и достигал 90%.

Оценка среднего количества ветвлений на проросшую спору показала, что в течение культивирования микромицета количество ветвлений на проросшую спору в опыте было больше, чем в контроле (табл. 2). К 19 часам культивирования в магнитном поле наблюдалось изменение морфологии мицелия гриба, в частности, увеличение числа ветвлений гиф на 52% по сравнению с контролем.

Таблица 2
Количество ветвлений на спору

Время культивирования	Количество ветвлений на спору	
	Контроль	Опыт
15 часов	0,26 ± 0,01	0,30 ± 0,02
17 часов	0,28 ± 0,06	0,40 ± 0,03
19 часов	0,29 ± 0,06	0,44 ± 0,03 *

* - статистически значимое отличие значений опыта от контроля.

Таким образом, исследование показало наличие чувствительности микромицета *T. viridae* на ранних стадиях развития к действию электромагнитного поля с частотой 14,3 Гц. При культивировании микромицета в условиях действия данного ЭМП увеличилась скорость прорастания спор и частота ветвления гиф, что свидетельствует о том, что воздействие ЭМП с частотой второй гармоники Шумановского резонанса оказывает стимулирующее действие на рост гриба *T. viridae*. Электромагнитное поле с такой ча-

стотой, вероятно, можно использовать в промышленности как регулятор роста и развития микромицетов. Выявленная нами способность микромицета *Trichoderma viridae* воспринимать низкочастотное поле, сходное по частоте с колебаниями геомагнитного, может оказывать влияние на результаты экспериментов с использованием микробиологических объектов.

NEUROSPORA CRASSA КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПРОЦЕССОВ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ КОММУНИКАЦИЙ У ГРИБОВ

Потапова Т. В.¹, Белозерская Т. А.²

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ

²Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН

Гифа *Neurospora crassa* представляет собой цепочку многоядерных сегментов длиной 50--100 мкм, сообщающихся через септальные поры. Растет и развивается гифа путем поляризованного верхушечного роста (ВР) -- векторного удлинения верхушек со скоростью 20--30 мкм/мин и периодического образования ветвей, которые также удлиняются на верхушках и ветвятся [1]. В ходе ВР из более взрослых отделов гифы к точке удлинения на переднем конце поступают многочисленные везикулы с необходимыми для роста гифы материалами и с высокой скоростью сливаются с плазматической мембраной переднего конца. Накоплен большой объем данных о структуре и динамике внутриклеточных систем, принимающих участие в ВР, составлены карты-схемы метаболических путей, описа-

ны молекулы-участники, в том числе белки-регуляторы. В обзоре [2] цитируется 346 источников, в которых описаны молекулярно-генетические механизмы, принимающие участие в функционировании апикального кончика гифы: экзоцитоза и эндоцитоза, септирования и организации потоков цитоплазмы, транспорта вдоль сети аппарата Гольджи. Авторы подчеркивают, что до сих пор не ясны механизмы участия ядер в процессе ВР.

Нам кажется, что для понимания закономерностей самоорганизации в многоклеточной системе полезно иметь представления об электрических свойствах клеток и электрических связей между клетками [3]. Тем более, что вопросу о возможном влиянии на функционирование генома со стороны локальных межклеточных электрических

полей уделяется все больше внимания в современной научной литературе [4-9].

Обязательная характеристика жизни — поток энергии через живую систему, который обеспечивает все процессы метаболизма [10]. Одна из важнейших универсальных естественных технологий — связь на уровне живых клеток энергетики с электричеством. В детализации проявления этих идей на клеточном уровне важное место занимают исследования на гифах *N.crassa* [11, 12].

Живая клетка — признанная единица жизни на планете Земля. Однако, примерно половина живого вещества на нашей планете существует не в виде отдельных клеток, а в виде многоклеточных организмов, каждая клетка которых, сохраняя свою идентичность и обладая собственным геномом, способна образовывать между соседними клетками специальные структуры — проницаемые межклеточные контакты (ПМК). Через ПМК клетки обмениваются напрямую в обход внешней среды веществами низкомолекулярного пула, в том числе потенциалобразующими ионами («электрическая связь») [13], что позволяет исследовать локальные межклеточные взаимодействия электрофизиологическими методами и моделировать их с помощью эквивалентных электрических схем [14, 15]. Возможности электрических и диффузионных взаимодействий через ПМК в полной мере используется гифами *N.crassa* [16-21].

Связь энергетики живой клетки с электричеством и наличие ПМК создает в системах живых клеток уникальную возможность энергетической кооперации, при которой соседние клетки оказывают друг другу энергетическую поддержку с помощью электрических токов через ПМК [22-24]. Явление локальной энергетической кооперации через ПМК обнаруживается на разных этапах эволюции и присуще многоклеточным системам, принадлежащим разным ветвям эволюционного древа жизни [24, 25]. В то же время, гифа *N.crassa* оказалась уникальной многоклеточной системой, реализующей возможности энергетической кооперации в живом природной процессе - поляризованном верхушечном росте [26]. Детальный экспериментальный и теоретический анализ этого явления позволил сделать вывод о возможности создания локального электрического поля за счет пространственного разделения в мембранных системах соседних клеток генераторов и потребителей энергии мембранного потенциала [3, 21, 24].

Большинство представителей аско- и базидиомицетов являются многоклеточными организмами. Они работали в процессе эволюции достаточно совершенные механизмы межклеточных коммуникаций с помощью низкомолекулярных соединений вторичного метаболизма, которые они способны синтезировать сами в процессе развития. *N.crassa* — универсальный многоклеточный организм на примере которого проводили изучение 2х типов коммуникационных механизмов у грибов: лиганд-рецепторных и межклеточных взаимодействий. Исследование коммуникаций у грибов, основанных на лиганд-рецепторных взаимодействиях, чрезвычайно важно, поскольку молекулы, являющиеся молекулярными мессенжерами и, одновременно, ауторегуляторами у грибов, держат под контролем детерминанты их вирулентности, включая диморфизм и формирование биопленок у *C.albicans*, образование капсул у *S.neoformans* и синтез микотоксинов у *A.nidulans*. Это, например, фарнезол и тирозол у дрожжей, а также оксипины у мицелиальных грибов. Кроме того, коммуникационные молекулы способствуют распространению грибов посредством регуляции их полового и бесполого размно-

жения [27]. Углубленное изучение процессов клеточных коммуникаций поможет в выработке стратегии борьбы с болезнями и с продукцией токсинов грибами.

Список литературы

1. Davis, R.H. (2000) *Neurospora: contributions of a model organism*. Oxf. Univ. Press.
2. Steinberg G., Penalva M.A., Riquelme M. et al. (2017) Cell biology of hyphal growth. *Microbiol. Spectrum*. V. 5, FUNK-0034-2016. <https://doi.org/10.1128//microbiospec.FUNK-0034-2016>.
3. Потапова Т. В. (2014) Структурная и функциональная организация растущих верхушек *Neurospora crassa* // *Биохимия* 79: 753-769.
4. Blackiston D.J., McLaughlin K.A., Levin M. (2009). Bioelectric controls of cell proliferation: ion channels, membrane voltage and the cell cycle. *Cell Cycle*. V. 821. P. 3527.
5. Pai V.P., Lemire J.M., Pare J.-F. et al. (2015). Endogeneous gradients of resting potential instructively pattern embryonic neural tissue via Notch signaling and regulation of proliferation. *J. Neurosci*. V. 35. P. 4366.
6. Fields C., Levin M. (2017). Multiscale memory and bioelectric error correction in the cytoplasm-cytoskeleton-membrane system. *WIREs Syst. Biol. Med.*, e141, <https://doi.org/10.1002/wsbm.1410>
7. Cao Lin, Liu Jie, Collinson J.M. et al.(2018). Endogenous bioelectric currents promote differentiation of the mammalian lens. *J. Cell Physiol*. V. 233. P. 2202.
8. McLaughlin K.A., Levin M. (2018). Bioelectric signaling in regeneration: Mechanisms of ionic controls of growth and form. *Dev Biol*. V. 433. P. 177. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.08.032>. Epub 2017 Dec 25
9. Cervera J., Levin M., Mafe S. (2020). Bioelectric coupling of single-cell states in multicellular systems. *J. Phys. Chem. Lett*. V. 11. P. 3234. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.jpcclett.0c00641>
10. Harold F. M. (1986) *The Vital Force: A Study of Bioenergetics*. New York: Freeman, 340 p.
11. Slayman C.L. (1965). Electrical properties of *Neurospora crassa*: respiration and the intracellular potential // *J. Gen. Physiol*. V. 49. P. 93-116.
12. Harold F. M., Calwell J. H. (1990). *Tips and currents: electrobiology of apical growth: Tip growth in plant and fungal cells* / Ed. Heath I. B. San Diego, CA: Academic Press, P. 59-90.
13. Loewenstein W.R. (1984). Cell individuality and connectivity, an evolutionary compromise. In: *Individuality and determinism*. (S.W. Fox ed.) New-York: Plenum Publ. Corp. P. 77.
14. Gradman D, Hansen U-P, Long WS et al. (1978) Current-voltage relationships for the plasma membrane and its principal electrogenic pump in *Neurospora crassa* // *J. Membr. Biol*. 39: 333-367.
15. Беркинблит М.Б., Божкова В.П., Бойцова Л.Ю. с соавт. (1981). Высокопроницаемые контактные мембраны. М.: Наука. 466 с.
16. Чайлахян Л.М., Левина Н.Н., Белозерская Т.А., Потапова Т.В. (1984). Изучение межклеточных взаимодействий у мицелиального гриба *Neurospora crassa* в связи с фотоэлектрическими изменениями в мембранах. *Биол. Мембраны* 1 (1) : 44—55.
17. Belozerskaya T. A., Potapova T. V. 1993. Intrahyphal communication in segmented mycelium. *Exper. mycol*. V. 17. P. 157.

18. Асланиди К. Б., Асланиди О. В., Вачадзе Д. М. С соавт. (1997) Математическая модель электрических явлений при поляризованном росте гифы *N. Crassa*. Биофизика. 42. 941-951.
19. Смолянинов В.В., Потапова Т.В. (2003). Оценка критической длины фрагмента гифы *Neurospora crassa* // Биол. мембраны. Т. 20. № 4. С. 304-312.
20. Потапова Т. В. (2004) Межклеточные взаимодействия в гифах *Neurospora crassa* – двадцать лет спустя. Биол. Мембраны, 21, 163-191.
21. Potapova, T. V. (2012) Cell-to-cell communication in the tip growth of mycelial fungi. In *Biocommunication of Fungi* (G. Witzani ed.), Springer-Verlag, Berlin–Heidelberg: 103-114.
22. Асланиди К.Б., Потапова Т.В., Чайлахян Л.М. (1988) Транспорт энергии через высокопроницаемые контактные мембраны. Биол. Мембраны Т. 5. С. 613–621.
23. Potapova T.V., Aslanidi K.B. (1995). Energy coupling of adjacent cells as an universal function of cell-to-cell permeable junctions. *Progress Cell Res.* V. 4. P. 53.
24. Потапова Т.В. (2021). Мембранная биоэнергетика и разделение труда в системах электрически связанных клеток. Цитология. Т. 63 (1). С. 1-12.
25. Потапова Т.В., Кокшарова О.А. (2020). Нитчатые цианобактерии как прототип многоклеточных организмов. Физиология растений. Т. 67. № 1. С. 20.
26. Potapova T.V., Aslanidi K.B., Belozerskaya T.A., Levina N.N. (1988) Transcellular ionic currents studied by intracellular potential recordings in *Neurospora crassa* hyphae. (Transfer of energy from proximal to apical cells). *FEBS Lett.* 241, 173–176.
27. Н. Н. Гесслер, С. Ю. Филиппович, Г. П. Бачурина, Е. А. Харченко, Н. В. Гроза, Т. А. Белозерская. 2017. Оксипипины и пути их синтеза у грибов. Прикл. Биохим. Микробиол. том 53, № 6, с. 568–579.

МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ КСЕРОГАЛОФИЛЬНОГО МИКРОМИЦЕТА *ASPERGILLUS PENICILLIOIDES* К ТЕПЛОВОМУ ШОКУ

Терёшина В.М.¹, Данилова О.А.¹, Януцевич Е.А.¹, Бондаренко С.А.^{1,2}, Антропова А.Б.³

¹Институт микробиологии им. С. Н. Виноградского, ФИЦ “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Москва

²Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Биологический факультет

³Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва

Ксерофильные грибы способны развиваться при активности воды ниже 0.85. Для адаптации к высокой осмолярности грибы используют HOG-путь [1], приводящий к накоплению большого количества глицерина, обладающего высокими осмопротекторными и антистрессовыми свойствами. Интерес представляет, как ксерофилы адаптируются к самому распространенному в природе стрессорному фактору — тепловому. Известно, что при тепловом шоке (ТШ) ингибируется экспрессия генов домашнего хозяйства и стимулируется экспрессия генов БТШ, ферментов антиоксидантной защиты и синтеза трегалозы [2]. Однако глицерин и трегалоза синтезируются в клетке из одного предшественника — глюкозы. В литературе не обнаружено данных о влиянии ТШ на экспрессию генов HOG-пути в условиях повышенной осмолярности. Ранее нами было показано, что у *Aspergillus niger* при комбинированном действии теплового и осмотического шоков наблюдается резкое снижение количества глицерина [3]. Мы предположили, что выращивание ксерофила на двух разных средах с высоким содержанием глицерина и NaCl, соответственно, позволит выявить, роль глицерина в адаптивном ответе ксерофилов на ТШ, поскольку на среде с солью гриб может только синтезировать глицерин, а на среде с глицерином — получать его из среды.

Цель работы — исследование роли осмолитной системы и мембранных липидов в адаптации ксерофилно-го гриба *Aspergillus penicillioides* к тепловому шоку.

Объект исследования — ксерофилно-аскомицет *Aspergillus penicillioides* Speg. VKM F-4838 (*Aspergillaceae*, *Eurotiales*, *Eurotiomycetidae*, *Eurotiomycetes*, *Pezyzomycotina*, *Ascomycota*) выделен из культуры клещей домашней пыли рода *Dermatophagoides*, выращенной на утильных волосах из электробритв при относительной влажности 75% [4].

Гриб выращивали глубинно на двух средах в колбах емкостью 250 мл с 50 мл среды на электромагнитной качалке

КЭ-12-250Т со скоростью вращения 150 об/мин. Состав среды 1 (г/л): Мальтакс-10 — 30; дрожжевой экстракт — 1; K₂HPO₄ — 1; NaCl — 117; вода — до 1 л; состав среды 2 (г/л): Мальтакс-10 — 30; дрожжевой экстракт — 1; K₂HPO₄ — 1; глицерин — 368; NaCl — 35, вода — до 1 л. На среде 1 гриб культивировали при оптимальной температуре 29–30°C 2 сут, на среде 2–3 сут, после чего культуры переносили при 40°C на 3 ч при тех же условиях аэрации. Липиды экстрагировали по методу Николса изопропанолом, дезактивирующим фосфолипазу, разделяли при помощи двумерной (полярные липиды) или одномерной (нейтральные липиды) ТСХ и проводили количественный анализ с использованием стандартных соединений методом денситометрии (программное обеспечение DENS) [5,6]. Растворимые углеводы и полиолы цитозоля экстрагировали кипящей водой, белки и заряженные соединения удаляли, получали триметилсилильные производные, которые анализировали методом ГЖХ с внутренним стандартом [7,8].

Исследование скорости роста гриба при различных условиях температуры, активности воды и концентрации NaCl показало, что он является мезофилом, облигатным ксерофилом и галофилом. При выращивании на среде с 2 М NaCl в мицелии гриба накапливается около 8% от сухой массы растворимых углеводов и полиолов (УиП). Среди них доминирует глицерин (75% от суммы), в заметном количестве образуется маннит (18%) и в следовом — эритрит, арабит, инозит и трегалоза. Под действием ТШ наблюдается кардинальная перестройка состава УиП: вдвое снижается количество УиП, в 6 раз снижается уровень глицерина, повышается количество трегалозы, в то время как уровень маннита остается прежним. Резко изменяется и относительное содержание УиП, доминируют маннит (35% от суммы), глицерин, глюкоза и трегалоза (по 20%). Однако, если гриб выращивать на среде с глицерином, наблюдается совсем другая картина. В контрольном варианте в мицелии

гриба накапливается около 12% от сухой массы УиП, при этом глицерин составляет около 98% от суммы, а остальные УиП присутствуют в следовом количестве. Действие ТШ приводит только к небольшому снижению количества УиП и глицерин остается доминирующим полиолом (75% от суммы), а также наблюдается увеличение долей маннита (9%) и трегалозы (13%).

Качественный состав мембранных и запасных липидов гриба при росте на обеих средах одинаков. Доминирующими липидами являются фосфатидные кислоты (ФК) и стеринны, минорными — фосфатидилхолины, фосфатидилэтаноламины, кардиолипины, фосфатидилсеринны, фосфатидилинозиты, лизофосфатидилэтаноламины, лизофосфатидилхолины, неидентифицированный липид Х1 и сфинголипиды. Общее количество мембранных липидов заметно выше на среде с глицерином. Общей закономерностью является увеличение количества ФК под влиянием ТШ. Можно отметить и увеличение количества и доли липида Х1 в составе мембранных липидов в мицелии гриба, выращенного на среде с глицерином. Однако при этом относительное количество мембранных липидов под влиянием ТШ изменяется слабо. Под влиянием ТШ в обоих вариантах опыта не зарегистрировано статистически значимого снижения степени ненасыщенности жирных кислот фосфолипидов.

Нами показано, что гриб, выращенный на среде с глицерином, по сравнению с солевой средой, демонстрирует большую термоустойчивость как в контрольном варианте, так и под действием ТШ, что показывает значение глицерина, в адаптивном ответе на ТШ.

Впервые было показано, что фосфатидные кислоты (ФК), вместе со стеринами, являются доминирующими мембранными липидами гриба, а характерные для большинства грибов фосфатидилхолины и фосфатидилэтаноламины — минорными. На среде с NaCl, по сравнению с глицериновой средой, под действием ТШ наблюдается существенное изменение осмолитного профиля, которое сопровождается более выраженной перестройкой в составе мембранных липидов, что указывает на взаимосвязь изменений состава мембранных липидов и осмолитов в адаптивном ответе. В мицелии уровень трегалозы увеличился на обеих средах, но не превышал 1% от сухой массы. Однако после воздействия ТШ гриб приобретает большую

термотолерантность на среде с глицерином, чем на среде с солью. Полученные данные свидетельствуют о взаимосвязи изменений состава осмолитов и липидов мембран при адаптивном ответе на ТШ, а также о синергическом действии глицерина и трегалозы.

Список литературы

- Petelenz-Kurziel E, Kuehn C, Nordlander B, Klein D, Hong K-K, Jacobson T, et al. Quantitative Analysis of Glycerol Accumulation, Glycolysis and Growth under Hyper Osmotic Stress. *PLoS Comput Biol* 2013;9:e1003084. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003084>.
- Piper PW. Molecular events associated with acquisition of heat tolerance by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol Rev* 1993;11:339–55. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1993.tb00005.x>.
- Ianutsevich EA, Tereshina VM. Combinatorial impact of osmotic and heat shocks on the composition of membrane lipids and osmolytes in *Aspergillus niger*. *Microbiology* 2019;165:554–62. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000796>.
- Petrova-Nikitina AD, Antropova AB, Mokeeva VL, Chekunova LN, Bilanenko EN, Bulgakova TA, et al. To the study of biocenotic relationships between house dust mites (Acariformes: Pyroglyphidae) and mould fungi. *Acarina* 2005;13:75–84.
- Benning C, Huang ZH, Gage DA. Accumulation of a Novel Glycolipid and a Betaine Lipid in Cells of *Rhodobacter sphaeroides* Grown under Phosphate Limitation. *Arch Biochem Biophys* 1995;317:103–11. <https://doi.org/10.1006/abbi.1995.1141>.
- Kates M. Techniques of Lipidology: Isolation, analysis and identification of lipids. In: Work TS, Work E, editors. *Lab. Tech. Biochem. Mol. Biol.*, vol. 3, Amsterdam: North-Holland Publishing Company; 1972, p. 267–610. [https://doi.org/10.1016/S0075-7535\(08\)70544-8](https://doi.org/10.1016/S0075-7535(08)70544-8).
- Brobst KM. Gas-Liquid Chromatography of Trimethylsilyl Derivatives: Analysis of Corn Syrup. In: Whistler RL, BeMiller JN, editors. *Gen. Carbohydr. Method*, New York and London: Academic Press; 1972, p. 3–8. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-746206-6.50008-4>.
- Somogyi M. Determination of blood sugar. *J Biol Chem* 1945;160:69–73. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)43098-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)43098-0).

МАГНИТНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ СТАДИИ КОНИДИЕГЕНЕЗА ФИТОПАТОГЕННОГО ГРИБА *BIPOLARIS SOROKINIANA* (S. ITO & KURIB.)

Воробьев Н.И.^{1,2}, Коваленко Н.М.², Попова Э.В.², Толмачев С.Ю.
¹ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург, ²ФГБНУ ВИЗР, Санкт-Петербург

Введение

Для проведения научных исследований (метод инокуляции образцов пшеницы, изучение вирулентности патогена и др.) необходимо иметь достаточное количество конидий фитопатогенного гриба *Bipolaris sorokiniana* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur [1-3]. Конидиегенез является бесполой формой размножения фитопатогенного гриба и происходит на стадии, следующей за мицелиальной стадией циклического развития гриба [4]. На питательных средах в большинстве случаев развитие гриба заканчивается мицелиальной стадией и переход к конидиеобразованию не происходит. Обычно переход к стадии конидиегенеза происходит при повышении температуры, ультрафиолетовом

облучении [5], при применении химических ингибиторов [6] и интродукцией бактериальных антагонистов [7]. Однако такие воздействия могут привести к появлению генетических мутаций гриба и могут существенно изменить его фитопатогенные свойства гриба.

Материалы и методы

Мы предполагаем, что надежнее стимулировать переход от мицелиальной стадии к конидиегенезу низкочастотным импульсным магнитным полем.

Для проверки этой гипотезы был проведен опыт с четырьмя чашками Петри. В каждой чашке находилась питательная среда V4 (овощная среда: 1 часть моркови, 2 части

сока моркови, 3-сок сельдерея и 4 части сока свеклы. 150 мл смеси соков, 850 мл воды на 1 литр среды), на которой было посеяно по пять небольших фрагментов мицелия *Bipolaris sorokiniana* [8]. Для облучения использовали устройство Акватор [9] (100 Гц, 10-15 мТл). Магнитное поле Акватора воздействует на физические свойства воды и водных растворов, увеличивая их текучесть и смачиваемость мицелия гриба [10]. Поэтому при воздействии магнитного поля на питательную среду питательные вещества быстрее поступают в клетки мицелия гриба, что стимулирует образование конидиеносцев и конидий.

Все 4 чашки с грибом находились в темноте в течение 7 дней при комнатной температуре. 4-я чашка (контрольная) не подвергалась магнитному воздействию. Три чашки (опытные 1-я, 2-я и 3-я чашки) подвергались непрерывному магнитному воздействию в течение всех 7 дней. Отличались 1-я, 2-я и 3-я чашки только расположением в пространстве, в котором они находились в течение всего опыта. 1-я чашка располагалась обычным образом (горизонтально крышкой вверх). 2-я чашка располагалась необычно горизонтально крышкой вниз. 3-я чашка располагалась необычно под углом 45° к горизонту крышкой вниз. Такие расположения чашек меняют ситуацию воздействия сил тяготения и магнитного поля на мицелий гриба и питательную среду. В 1-й чашке мицелий располагается выше среды, а во 2-й и 3-й чашках питательная среда располагается выше мицелия гриба.

Результаты

В 4-й чашке (контрольной) мицелиальная стадия гриба не сменилась стадией конидиогенеза и мицелий развился на всю площадь чашки.

В 1-й чашке, которая облучалась электромагнитным полем и располагалась крышкой вверх, мицелиальная стадия гриба не сменилась стадией конидиогенеза. На мицелии гриба скопились капельками конденсата. РПо-видимому, при таком расположении среды и мицелия и при воздействии магнитного поля вода из питательной среды переместилась на мицелий, то есть произошло высушивание питательной среды и остановка развития гриба на мицелиальной стадии.

Во 2-й и 3-й чашках, в которых среда располагалась выше мицелия, при облучении магнитным полем высушивание питательной среды не происходило. Капельки воды отсутствовали на мицелии гриба. По-видимому, такое взаимное расположение мицелия и питательной среды привело к высушиванию мицелия в магнитном поле и сохранению влаги в питательной среде. Вследствие этого, мицелиальная стадия развития гриба сменилась стадией конидиогенеза и образованием плотного черного мата конидий.

Вывод

Данный опыт показал, что взаимное расположение питательной среды и мицелия гриба является важным усло-

вием, при котором внешнее магнитное воздействие может привести к переходу от мицелиальной стадии к стадии конидиогенеза при развитии фитопатогенов на питательных средах. Возможно, на эти процессы оказывают влияние температура, влажность, давление воздушной среды и освещенность. Комбинация внешних факторов может привести к значительному сокращению мицелиальной стадии развития и ускорению перехода к стадии конидиогенеза. Мы предполагаем это исследовать в будущих экспериментах.

Список литературы

1. Ашмарина Л.Ф. Особенности жизненного цикла возбудителя корневой гнили *Bipolaris Sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker / Материалы III Международного микологического форума. Москва. 14-15.2015 // М.: Нац. акад. микол. 2015. Т. 5. С. 11-13.
2. Савин П.С. Особенности биорегуляции конидиогенеза в условиях глубинного культивирования элитного инфекционного материала спорыньи (*Claviceps purpurea* (Fr.) Tul.) / Автореф. канд. биол. наук: 3.00.23- Биотехнология. // Москва. ВИЛАР. 2007. 24 с.
3. Тазетдинова Д.И., Абдуллина Г.Ф., Алимова Ф.К. Влияние тяжелых металлов на конидиогенез почвенных микромицетов / Сб. материалов 3-го Съезда микологов России «Современная микология в России». Том 3. // М.: Национальная академия микологии, 2012. С. 174
4. Калько Г.В., Воробьев Н.И., Лагутина Т.М.. Векторная математическая модель развития популяции *Fusarium oxysporum* в торфогрунте / Микология и фитопатология. Том 40. 2006. Вып. 4. с 319-329.
5. Поединок Н.Л., Михайлова О.Б., Ходаковский В.М., Дудка И.А. Фотоактивация посевного материала культивируемых макромицетов / Материалы III Международного микологического форума. Москва. 14-15.2015 // М.: Нац. акад. микол. 2015. Т. 5. С. 343-345.
6. Тютюрев С.Л. Механизмы действия фунгицидов на фитопатогенные грибы / СПб.: ИПК «Нива», 2010. 172 с.
7. Штерншиш М.В., Джалилов Ф.С.-У., Андреева И.В., Томилова О.Г. Биологическая защита растений / Москва: Колос. 2004. 264 с.
8. Михайлова Л.А., Мироненко Н.В., Коваленко Н.М. Желтая пятнистость пшеницы: метод, указания / СПб.: ВИЗР. 2012. 38 с.
9. Толмачев С.Ю., Тарасенко В.Я. Устройство для обработки воды и водных растворов «Акватор» / Патент РФ № 2297392 от 10.06.2006.
10. Панфёрова Т.В., Пухальский Я.В., Митюков А.С. и соавтор. Оценка применения биопрепарата комплексного действия Агрофил и полигуматов сапропеля на интенсификацию физиологических процессов *Allium Sera 1* при росте в омагниченной гидрокультуре / Аграрный научный журнал. 2021. №3. С. 38-44.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ПРОДУКЦИЕЙ АНТИБИОТИКА ЦЕФАЛОСПОРИНА С И БИОСИНТЕЗОМ ПОЛИАМИНОВ У *ACREMONIUM CHRYSOGENUM*

Жгун А.А., Эльдаров М.А.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт Биоинженерии, Москва

Одним из основных способов для получения высокоактивного грибного продуцента вторичных метаболитов является многораундовый случайный мутагенез и скрининг по продукции целевого метаболита. Однако наряду с полезными изменениями, связанными с увеличением продукции, могут отбираться сопутствующие мутагенезу события, обуславливающие сопротивление клетки различным мутагенным воздействиям. Одними из таких изменений могут быть сдвиги со сдвигами в метаболизме полиаминов. Ранее мы показали, что у высокопродуктивного штамма цефалоспорина С (СРС) *Acremonium chrysogenum* (НУ) содержание эндогенных полиаминов (ПА) увеличилось в 4–5 раз [1]. Другие исследования показали, что добавление экзогенных полиаминов может увеличить продукцию целевых вторичных метаболитов у высокоактивных грибов-продуцентов, в частности увеличить биосинтез β -лактамов в штамме *Penicillium chrysogenum* Wis 54-1255, улучшенном продуцент пенициллина G. В текущем исследовании мы обнаружили, что введение экзогенных полиаминов, таких как спермидин (СПД) или 1,3-диаминопропан (1,3-ДАП), в штаммы *A. chrysogenum* дикого типа (WT) и НУ приводит к увеличению прорастания колоний, и морфологическим изменениям на полной агаризованной среде. Добавление 5 мМ полиаминов во время ферментации увеличивает продукцию СРС в штамме НУ *A. chrysogenum* на 15–20% и активирует гены, принадлежащие к кластеру биосинтеза бета-лактамов. Полученные данные свидетельствуют о пересечении метаболизмов полиаминов и бета-лактамов у *A. chrysogenum* и важны для построения улучшенных продуцентов вторичных метаболитов у мицелиальных грибов.

Влияние ПА на прорастание и размер колоний *A. chrysogenum* на агаризованной среде СРА

Высокопродуктивный штамм *A. chrysogenum* во время многоэтапного случайного мутагенеза для улучшения продукции СРС стал значительно менее жизнеспособным, чем исходный штамм дикого типа; в частности, утратил способность образовывать конидии [14]. Он также чрезвычайно чувствителен к замораживанию при низких температурах, лиофилизации и длительному хранению при 4°C на агаризованных средах. После таких манипуляций клетки НУ *A. chrysogenum* погибают. Единственным стабильным методом поддержания этого штамма является последовательный пересев на агаризованные среды. Однако при таком способе хранения культуры со временем (через 3–4 пересева) выделяются малоактивные клоны, что значительно снижает выход целевого продукта. Такое расщепление на низкоактивные и высокоактивные в продукции клонов СРС может быть связано с эпигенетическими событиями, поскольку локусы BGCs находятся под контролем факторов глобальной регуляции, ремоделирующих хроматин в этих регионах [41,42]. Для поддержания высокоактивной линии необходимо проводить периодическое просеивание моноспор на агаризованную среду, стимулирующую образование ЦПК, например среду агаризованного комплекса (КПК). Это приводит к выявлению неоднородности раз-

меров колоний. Различают относительно крупные колонии (низкие по продукции СРС), средние колонии, примерно в два раза мельче (активно продуцирующие СРС), а также мелкие колонии, в 5–10 раз меньше, с крайне низкой жизнеспособностью и непригодные для эффективной ЦПК производства. В то же время самые крупные колонии *A. chrysogenum* НУ значительно меньше по размеру (в 10 и более раз), чем колонии *A. chrysogenum* WT после посева моноспор на агаризованную среду. Кроме того, штамм дикого типа не проявляет гетерогенности по размеру колоний на этой среде.

Мы обнаружили, что добавление изучаемых ПА в среду СРА (40 г/л мальтозы, 10 г/л пептона, 20 г/л солодового экстракта, 25 г/л агара, pH 7,0–7,4) может значительно повлиять на прорастание и размер колонии штамма НУ *A. chrysogenum*. Стимуляция прорастания колоний и увеличения их размеров начиналась при концентрациях 0,5 мМ и достигала наибольшего эффекта при 5 мМ. Добавление 0,5 мМ 1,3-ДАП или СПД увеличивало количество прорастающих колоний примерно в 1,5 раза; 1 мМ этих соединений увеличивал КОЕ/мл примерно в два раза. В концентрации 5 мМ ПА оказывали разную степень стимулирующего действия. СПД 5 мМ увеличивал примерно в ~3,5 раза КОЕ/мл по сравнению с контролем; 5 мМ 1,3-ДАП стимулировал это еще больше — увеличение было ~5-кратным. Добавление 0,1–0,25 мМ ПА не оказывало эффекта. Концентрация 1,3- ДАП или СПД 10 мМ была токсичной. Количество проросших колоний снижалось на 20 % при добавлении 10 мМ 1,3-ДАФ и еще более на 25 % при добавлении 10 мМ СПД.

Добавление ПА также привело к изменению фенотипа размера колонии штамма НУ на среде СРА. Добавление 1,3- ДАП в диапазоне концентраций 0,5–5 мМ приводило к постепенному исчезновению неоднородности размеров колоний за счет увеличения мелких и средних колоний до размеров крупных колоний. Максимальный эффект от добавления 5 мМ 1,3- ДАП приводил к тому, что все колонии штамма НУ становились одинакового размера, соответствующего размеру больших контрольных колоний; в результате общий средний диаметр колоний увеличился примерно в два раза по сравнению с контролем. Добавление 0,1–0,25 мМ 1,3- ДАП не влияло на размер колонии; 10 мМ 1,3- ДАП приводили к резкому уменьшению размера колоний по сравнению с 5 мМ 1,3- ДАП, что может свидетельствовать о токсичности столь высокой концентрации этого вещества.

Добавление СПД вызывало аналогичные эффекты 1,3-ДАП: концентрация 0,1–0,25 мМ не оказывала существенного влияния, 0,5–5 мМ стимулировала с наибольшим эффектом при 5 мМ, а концентрация 10 мМ была токсична для клеток. Хотя общая тенденция была аналогичной, СПД оказывал значительно более выраженный стимулирующий эффект на увеличение размера колонии, чем 1,3- ДАП. Таким образом, добавление 5 мМ SPD приводило к значительному изменению макроморфологии колоний штамма

НУ. Они стали в два раза больше в диаметре, чем самые большие колонии на контрольной среде; более того, все они были одинакового размера.

Ферментация штамма НУ *A. chrysogenum* с экзогенными ПА

Добавление экзогенных ПА не оказало существенного влияния на продукцию ЦПК в первый день ферментации. Далее в течение 48–96 часов наблюдали небольшой, но отчетливый стимулирующий эффект. Культивирование в присутствии 5 мМ 1,3-ДАП увеличивало продукцию СРС на 7–14%; добавление 5 мМ СПД увеличивало продукцию СРС на 5–6%. Стимулирующий эффект от добавления 5 мМ ПА проявлялся на поздней стадии ферментации. Через 120–144 ч культивирования с 5 мМ 1,3-ДАП продукция СРС была на 13–14 % выше, чем в контроле. Добавление СПД привело к увеличению выхода СРС на 11–12 % через 120 часов и до 15 % через 144 часа. В абсолютном выражении через 144 часа штамм НУ на полной ферментационной среде без добавки продуцировал 11500 мг/л СРС; при добавлении к ней 5 мМ СПД продукция составляла 13300 мг/л СРС (рис. 5А, 6). При этом не наблюдалось увеличения относительного уровня побочных продуктов биосинтеза бета-лактамов, таких как деацетоксицефалоспорин С (ДАОС) или деацетилцефалоспорин С (ДАС), что наблюдалось ранее после некоторых манипуляций с этим штаммом [2,3].

Анализ продукции СРС и уровня экспрессии биосинтетических генов бета-лактамов в штамме НУ *A. chrysogenum* после добавления экзогенных ПА в процессе ферментации.

Мы изучали экспрессию генов биосинтеза «ранних» бета-лактамов ВГС: i) ген *rcbAB* для ACV (δ -[L- α -аминоадипил]-L-цистеинил-D-валин)синтетазы (КФ: 6.3.2.26), центральный фермент биосинтеза бета-лактамов, образующий в ACV трипептид в виде NRPS (нерибосомальная пептидная синтетазы); ii) ген *rcbC* изопенициллин-N-синтазы (ЕС: 1.21.3.1), оксигеназы, которая синтезирует пенициллин N (IPN) из трипептида ACV; iii) ген *cefD1* для изопенициллин-N-КоА-синтетазы (ЕС: 5.1.1.17), компонента 1 эпимеразы IPN, который активирует IPN с помощью ацил-СоА-синтазы; iv) ген *cefD2* эпимеразы изопенициллин-N-КоА (ЕС: 5.1.1.17), компонент 2 эпимеразы IPN, который эпимеризует IPN-СоА до пенициллина N (PenN). Мы также исследовали экспрессию генов биосинтеза «поздних» бета-лактамов ВГС: v) ген *cefEF* для деацетоксицефалоспорин-С-синтетазы (*penN*-экспандазы) (КФ 1.14.20.1)/деацетоксицефалоспорин-С-гидроксилазы (1.14.11.26), который последовательно катализирует два оксигеназные реакции превращения PenN в ДАОС и затем в ДАС; vi) ген *cefG* для деацетилцефалоспорин-С-ацетилтрансферазы (ЕС 2.3.1.175), который переносит ацетильный остаток от ацетилкофермента А к ДАС с образованием СРС.

Через 1 ч после переноса культуры с посевной на полную среду с ПА или без них различий в экспрессии генов биосинтеза бета-лактамов не наблюдалось. При этом ди-

намика экспрессии «ранних» и «поздних» генов биосинтеза бета-лактамов различалась. В контрольных образцах уровень мРНК, экспрессируемой с «ранних» генов, плавно увеличивался в диапазоне 24–96 часов, для *rcbAB* и *rcbC*, или в диапазоне 24–120 часов, для *cefD1* и *cefD2*; после периода роста экспрессии генов во всех случаях наблюдалось небольшое снижение этого уровня. В контроле для «поздних» генов уровень экспрессии изменялся незначительно, вплоть до середины ферментации, 72 часа; а затем через 72–120 часов начался быстрый рост уровня экспрессии. К концу ферментации уровень экспрессии либо слегка увеличивался для *cefEF*, либо снижался для *cefG*. Добавление ПА в большинстве случаев либо не меняло уровень экспрессии как «ранних», так и «поздних» генов (чаще проявлялось на ранних стадиях ферментации), либо приводило к их активации (чаще проявлялось себя в середине и конце брожения). Если активация определенного гена происходила в определенный момент времени, то в большинстве случаев она была вызвана обоими полиаминами; активация при добавлении спермидина обычно была немного выше; он может достигать 6–8 раз. Лишь в нескольких случаях 1,3-ДАП активировал изучаемые гены сильнее, чем спермидин, например, *cefD1* через 24 часа или *cefG* через 144 часа. Среди генов биосинтеза бета-лактамов *cefG* наиболее сильно активировался в период 72–144 часов; добавление 1,3-ДАП активировало *cefG* в 2–4 раза; добавление спермидина активировало *CefG* в 3–8 раз по сравнению с контролем.

В нашей работе мы показали, что введение экзогенных полиаминов может дополнительно на 15–20% повысить продукцию СРС у *A. chrysogenum* НУ. Это сопровождается активацией как «ранних», так и «поздних» генов биосинтетических кластеров бета-лактамов, особенно *cefG*, кодирующего ключевой фермент конечной стадии биосинтеза, превращающий ДАС в СДС. Поскольку ранее было показано, что экзогенные ПА могут повышать продукцию вторичных метаболитов у других улучшенных продуцентов грибов, в частности, продукцию пенициллина G и ловастина, наши результаты могут отражать некоторую общую тенденцию, которая в дальнейшем может быть реализована при культивировании промышленных штаммов грибов.

Список литературы

1. Hyvönen M.T. et al. Hydroxylamine analogue of agmatine: Magic bullet for arginine decarboxylase // *Biomolecules*. MDPI AG, 2020. Vol. 10, № 3. P. 406.
2. Dumina M. V. et al. Functional analysis of MFS protein CefT involved in the transport of beta-lactam antibiotics in *Acremonium chrysogenum* and *Saccharomyces cerevisiae* // *Appl. Biochem. Microbiol.* Springer US, 2013. Vol. 49, № 4. P. 368–377.
3. Zhgun A. et al. The critical role of plasma membrane H⁺-ATPase activity in cephalosporin C biosynthesis of *Acremonium chrysogenum* // *PLoS One*. 2020. Vol. 15, № 8 August.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СВОЙСТВ ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗ ГРИБОВ РОДА ASPERGILLUS

Жуковская Л.А., Семашко Т.В., Мунтянова М.В.

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Холестеролоксидаза (ХО) (КФ 1.1.3.6.) – фермент, относящийся к классу оксидоредуктаз, который катализирует окисление и изомеризацию холестерина

с образованием пероксида водорода. Фермент продуцируется широким спектром бактерий и имеет большую коммерческую ценность, поскольку необходим

для определения холестерина в пищевых и биологических образцах, может использоваться в качестве катализатора в биоконверсии стероидных соединений и как инсектицидное средство [1, 2].

Ранее нами при помощи чашечного тест-метода был проведен поиск мицелиальных грибов, продуцирующих ХО, отобраны наиболее активные по ХО штаммы и проанализирована их способность к синтезу внеклеточного фермента в условиях глубинного культивирования [3].

Цель исследования – провести сравнительный анализ свойств ХО продуцируемых отобранными ранее штаммами грибов рода *Aspergillus*.

В результате проведенной работы были проанализированы свойства полученных ферментных препаратов ХО, продуцируемые отобранными ранее штаммами грибов рода *Aspergillus* (*A. niger*, *A. aliaceus* 35, *A. aliaceus* 764) такие, как рН-оптимум, рН-стабильность, термооптимум и термостабильность.

При определении рН-оптимумов ХО отобранных штаммов установлено, что оптимальным значением рН для *A. niger* является 6,0, для *A. aliaceus* 35 – 7,0, *A. aliaceus* 764 – 8,0-9,0 (100%-ное сохранение ферментативной активности). Наиболее широким интервалом значений рН (2,0-9,0), в котором проявлялась каталитическая активность ХО, обладал *A. niger* (сохранение 25,0-100,0% ферментативной активности).

Что касается рН-стабильности то показано, что данные штаммы стабильны в узком диапазоне рН. Так, у *A. aliaceus* 764 при рН 8,0 наблюдается сохранение 100,0% активности ХО, а при рН 7,0 – 50,0%. Дальнейшее увеличение или уменьшение концентрации водородных ионов в среде приводило к инактивации фермента. После 1 ч инкубации в растворах со всеми исследованными значениями рН (2,0-12,0) также наблюдалась полная инактивация фермента данного штамма. У *A. aliaceus* 35 100,0% ХО активности сохранялось при рН 7,0 и

8,0, а также 50,0% при рН 5,0 и 6,0. При инкубации фермента данного штамма в течение 1 ч остаточная активность составила 50,0% при рН 7,0 и 10,0% при рН 8,0. Лучшие результаты по рН-стабильности получены у ХО *A. niger*. Установлено, что фермент данного штамма сохранял 100,0% ферментативной активности при рН 5,0, 28,6-42,9% при рН 2,0-4,0 и 14,3% при рН 6,0-8,0. После 1 ч инкубации ХО *A. niger* в растворах с заданными значениями концентрации водородных ионов сохранялось 14,3-42,9% ферментативной активности при рН 2,0-8,0.

Анализ термостабильности ХО исследуемых штаммов выявил, что наиболее широким диапазоном данного показателя обладал фермент *A. niger* (максимальная остаточная активность после 1 ч инкубирования наблюдалась при 20°C и составила 100,0%, минимальная – 25,0% при 50°C). ХО *A. aliaceus* 35 была стабильна только при 20-30°C (сохранение 100,0% при 30°C и 33,3% при 20°C), а *A. aliaceus* 764 – при 30-40°C (сохранение 100,0% ХО).

Оптимальные условия для действия ХО создаются при температурах 20-30 °С для *A. aliaceus* 35 и *A. niger*, а также 30-40 °С для *A. aliaceus* 764.

Список литературы

1. Kapoor, L. Cholesterol oxidase and its applications / L. Kapoor, S. Kanwar // Adv. Microbiol. – 2012. – Vol. 2 – P. 49-65.
2. Noriyuki, D. Characteristics and biotechnological applications of microbial cholesterol oxidases / D. Noriyuki // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2009. – Vol. 83. – P. 825-837.
3. Zhukouskaya L.A., Semashko T.V., Muntsianava M.V. Fungi as potential producers of cholesterol oxidases // National scientific symposium with international participation: Modern biotechnologies – solutions to the challenges of the contemporary world, Moldova, Chisinau 2021, May 20-21 (online). – P. 162.

Глава 3.

Биология дрожжей

doi: 10.14427/cmr.2022.ix.03

ИЗУЧЕНИЕ НАСЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ ФЛОКУЛЯЦИИ У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Борисенко О.А.

ВНИИПБиВП – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва

В середине XX века в период внедрения ЦКТ (цилиндроконических танков) начинается интенсивное изучение характеристик пивоваренных дрожжей, которые необходимы для управления и оптимизации процессов брожения пива. Качественными с точки зрения технологии обычно считаются дрожжи, которые быстро сбраживают сусло, хорошо флокулируют, но при этом растут с умеренной скоростью, в результате сообщают пиву надлежащие вкусовые свойства. Способность к флокуляции, безусловно, одна из самых важных технологических характеристик хорошего производственного штамма дрожжей, с этим свойством дрожжей связаны такие показатели, как степень сбраживания сусла, органолептические свойства пива, а также его биологическая и коллоидная стойкость. [1,2] На практике важно, чтобы используемый штамм дрожжей имел хорошую способность к флокуляции, но эта способность должна проявляться в определенное время. Не должно быть преждевременной флокуляции, так при этом снижается доступ к поверхности дрожжей, ухудшается их способность к брожению и тем самым к сбраживанию, а также остальная метаболическая деятельность дрожжей. Пиво при ранней флокуляции дрожжей имеет низкую биологическую стойкость. Если дрожжи не флокулируют пиво будет мутным, избыточное содержание дрожжей при дображивании приводит к ухудшению органолептических показателей. Механизм флокуляции дрожжей привлекает внимание многих исследователей. Согласно сегодняшним представлениям способность дрожжей к флокуляции и седиментации прежде всего зависит от генетических свойств отдельных штаммов дрожжей и является очень штамм – специфическим. Причины, обуславливающие хлопьеобразование, точно не известны. Способность образовывать хлопья является генетическим признаком, и зависит, по крайней мере, от 11 генов, на нее также оказывают определенные факторы пива (температура, катионы, рН, давление и т.д.). [3] Первое подробное исследование флокуляции верховых пивоваренных дрожжей, с генетической точки зрения, было проведено Торном, скрещивая флокулирующие и нефлокулирующие штаммы дрожжей показал, что у *Saccharomyces cerevisiae* имеются гены, которые ответственны за флокуляцию. [4] В последующие годы изучение генетических аспектов флокуляции было продолжено. Было подтверждено, что процесс флокуляции зависит от экспрессии специфических генов флокуляции, эти гены являются относительно нестабильными из-за мутаций, кроме того они могут транскрипционно замолчать, что приводит к изменению флокуляционной способности дрожжей.

Задачей нашей работы было изучение наследования свойств флокуляции, для исследования были выбраны два

штамма дрожжей: нефлокулирующий 94 и флокулирующий 122. Оба штамма имеют сходный генотип, поскольку получены скрещиванием сегрегантов штамма 31. Однако эти штаммы отличаются не только по флокуляции, но и по способности к глубокому сбраживанию сусла (штамм 94 – глубоковсбраживающий, а 122 – нет). Сегрегантные культуры исходных штаммом были получены, путем обработки спорующих культур желудочным соком виноградной улитки и рассеивались на питательную среду. Гаплоидные клетки дрожжей обычно мельче по размерам по сравнению с диплоидной и форма их более округлая. Гаплоидные клетки не расходятся, а образуют скопления в виде грозди из нескольких клеток. [5] Среди выросших на питательной среде колоний отбирали мелкие колонии, предположительно являющиеся сегрегантными, и эти изоляты далее изучались. Из колоний нефлокулирующего штамма 94 было отобрано 149 изолятов. Высевы изолятов на среду для споруляции выявили 104 изолята, способных к споруляции и, следовательно, не пригодных к скрещиванию. Из оставшихся неспорулирующих культур 20 не имели полового признака, и также были отброшены. 25 культур имели половой знак: 19 типа «а» и 6 типа «а». Из них способность к спариванию была хорошо выражена у 10 культур: 8 имели половой знак типа «а» и 2 типа «а», они были отобраны для дальнейшего скрещивания. У выделенных изолятов изучалась способность к глубокому сбраживанию сусла, методом определения конечной степени сбраживания, поскольку нас также интересовала проблема получения гибридов, сохраняющих оба важных производственных качества – глубину сбраживания и флокуляцию. По способности к спариванию и глубокому сбраживанию были отобраны к скрещиванию четыре штамма. Отобранные для скрещивания сегреганты также проверялись на способность к флокуляции, по методу Хельма. [6] Два из них флокулировали, а два – нет, т.е. у нефлокулирующего штамма обнаружены флокулирующие сегреганты, следовательно, штамм 94 гетерозиготен по этому признаку. Из колоний флокулирующего штамма 122 было отобрано 83 изолята, после их проверки на способность к споруляции и наличию полового знака, были отброшены 62 изолята как непригодные к скрещиванию. Оставшиеся 21 изолята имели половой знак: 16 культур типа «а» и 5 культур типа «а». Из них у 7 культур способность к спариванию была хорошо выражена: 5 типа «а» и 2 типа «а» и они были отобраны для дальнейшего скрещивания. В результате скрещивания сегрегантов штаммов 94 и 122 было получено 9 гибридных культур с разными свойствами. Шесть культур от скрещивания флокулирующих сегрегантов штаммов 94 и 122 обладали хорошей флокуляцией, один вариант не был способен флокулировать. Два

варианта от скрещивания между собой флокулирующих сегрегантов штамма 122 дало не флокулирующие гибриды 80 и 81, т.е. при скрещивании произошло подавление флокуляционной способности сегрегантов. Гибриды от скрещивания сегрегантов штамма 122 и штамма 94 обла-

дали способностью сбразивать сусло в разной степени, но только четыре гибрида по степени сбразивания сусла были равноценны штамму 94. Полученные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика гибридных штаммов.

Вариант скрещивания	№ гибрида	Флокуляция Хельму	по	Степень сбразивания, Р%
55 ₉₄ а×11 ₁₂₂ а	73	не флокулирует		80,5
46 ₁₂₂ а×123 ₉₄ а	74	3,2		79,9
37 ₁₂₂ а×123 ₉₄ а	75	4,0		74,0
20 ₁₂₂ а×123 ₉₄ а	76	3,8		73,2
107 ₉₄ а×11 ₁₂₂ а	77	3,8		80,4
24 ₉₄ а×11 ₁₂₂ а	78	3,9		82,2
39 ₉₄ а×11 ₁₂₂ а	79	3,2		82,1
20 ₁₂₂ а×11 ₁₂₂ а	80	не флокулирует		71,0
46 ₁₂₂ а×11 ₁₂₂ а	81	не флокулирует		69,0

Исследуя все полученные результаты для дальнейшего изучения технологических свойств, с целью применения в пивоваренном производстве, были отобраны четыре штамма 74, 77, 78, 79, обладающие хорошей флокуляцией и высокой степенью сбразивания сусла

Список литературы

1. Аннемюллер Г. Дрожжи в пивоварении /Г.Аннемюллер, Г.Мангер, П.Литц- пер. с англ. – СПб.: Профессия, 2015. 428с2. Прист Ф.Дж. Микробиология пива / Ф.Дж. Прист, Й.Кэмпбелл -пер с англ. – СПб.: Профессия, 2005. 368с3.
2. Кунце В. Технология солода и пива /В.Кунце, Г.Мит - пер. с нем. - СПб: Профессия, 2001. 362 с4.
3. Thorne R.S. The genetics of flocculence in *Saccharomyces cerevisiae*/ Cr Trav Lab Carlsberg Ser Physiol/1951.-24(4). -С.101-1405.
4. Филимонова Т.И. Селекция пивных дрожжей- /Т.И.Филимонова, О.А.Борисенко//Пиво и напитки.-2010.-№1.-С.6-86.
5. Жвирблянская А.Ю. Микробиологический контроль производства пива и безалкогольных напитков/ А.Ю.Жвирблянская -М.: Пищевая промышленность, 1979. С.52-55

МИКОЦИН ОБРАЗУЮЩИЕ ШТАММЫ *SCHWANNIOMYCES OCCIDENTALIS*

В. И. Голубев

Всероссийская коллекция микроорганизмов, ИБФМ РАН, Пушино

Два микоциногенных штамма *Schw. occidentalis* (синоним – *Schw. alluvius*), ВКМ Y-1639 и Y-1642, выделены нами из луговой черноземовидной легкосуглинистой почвы (Краснодарский край) (Голубев, Вдовина, 1973). Образование ими микоцинов (киллер токсинов) выявлено при тестирования друг против друга 11 поддерживаемых в ВКМ штаммов данного вида на глюкозо-пептонном агаре, приготовленном на цитрат-фосфатном буфере. Активность проявлялась при кислых значениях pH (4-6) среды. Наиболее широкие зоны подавления роста чувствительных культур наблюдались при pH 4,5 и наличии в среде 3% NaCl. В отличие от ранее описанного микоциногенного штамма *Schw. occidentalis* ATCC 44252 (Chen, Han, Jong, Chang, 2000) обнаруженные нами микоцины обладают, по-видимому, фунгистатической, а не фунгицидной активностью, поскольку ингибируемые ими чувствительные клетки не окрашиваются метиленовым синим.

Обе найденные культуры действуют против типовых штаммов видов *Schw. occidentalis* и *Schw. vanriijiae*, а Y-1639

также против *Schw. etchellsii*. Остальные три вида этого рода к ним нечувствительны. Следует отметить, что нечувствителен и типовой штамм *Debaryomyces formicarius*, рассматриваемый в настоящее время как синоним *Schw. vanriijiae*.

Микоцины, как известно, проявляют активность против филогенетически родственных видов (Голубев, 2012) в связи с чем проведено обследование активности обнаруженных микоцинов против видов рода *Debaryomyces*, являющегося филогенетически сестринским роду *Schwanniomyces* (Suzuki, Prasad, Kurtzman, 2011). Действительно, к ним оказались чувствительны типовые штаммы *Deb. coudertii* и *Deb. hansenii* и анаморфы второго - *Candida famata*, а против типового штамма *Deb. fabryi* был активен лишь микоцин, продуцируемый культурой Y-1639. Типовые штаммы других четырех видов дебариомицетов к микоцинам шванниомицетов нечувствительны. Необходимо подчеркнуть гетерогенность вида *Deb. hansenii*, включающего как чувствительные, так и нечувствительные культуры, многие из которых являются типовыми штаммами видов,

рассматриваемых сейчас как синонимы *Deb. hansenii*. В отдельных случаях устойчивость может быть обусловлена иммунитетом к данным микоцинам, поскольку эти штаммы сами являются микоциногенными. Таковыми, в частности, оказались штаммы *Deb. hansenii* ВКМ Y-97, Y-104 и Y-108, что нами было обнаружено при тестировании их против высоко чувствительного штамма этого вида, ВКМ Y-109. Однако в основном гетерогенность вида в реакциях к микоцинам обычно свидетельствует о таксономической гетерогенности, и в таких ситуациях принятая синонимия должна быть подтверждена более тщательными исследованиями.

Список литературы

1. Голубев В.И., Вдовина Н.В., 1973. Дрожжевая флора почв рисовых полей, обрабатываемых гербицидами. Поведение, превращение и анализ пестицидов и их метаболитов в почве. 66-73.
2. W.-B. Chen, Y.-F. Han, S.-C. Jong, S.-C. Chang, 2000. Isolation, purification and characterization of a killer protein from *Schwanniomyces occidentalis*. *Appl. Environm. Microbiol.* 66, № 12, 5348-5352.
3. Голубев В.И., 2012. Микоцитотипирование. *Микология и фитопатология* 46, № 1, 3-13.
4. Suzuki M., Prasad G.S., Kurtzman C.P., 2011. *Debaryomyces Lodder et Kreger-van Rij. The Yeasts. A Taxonomic Study.* Vol. 2, 361-373. (Ed. by C.P. Kurtzman, J.W. Fell, T. Boekhout).

ВОЗДЕЙСТВИЕ БЕЛКА С АМИЛОИДНЫМИ СВОЙСТВАМИ BGL2P КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* НА СОСТОЯНИЕ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ И ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ

Т.С. Калеева¹, В.В. Рекстина¹, А.Г. Королев², А.Н. Иноземцев²

¹ Кафедра молекулярной биологии, биологический факультет, МГУ имени М.В. Ломоносова

² Кафедра высшей нервной деятельности, биологический факультет, МГУ имени М.В. Ломоносова

Амилоиды представляют собой белковые фибриллы, обогащенные β -слоями, расположенными перпендикулярно продольной оси фибрилл. В амилоидной фибрилле β -слои могут располагаться параллельно и антипараллельно. Расстояние между основными цепями внутри β -тяжей составляет 0,47 нм, между соседними β -слоями – 0,8-1,2 нм (1). Число амилоидозов, идентифицируемых у человека и животных, растет (2), однако данное заболевание, тем не менее, остаётся трудно диагностируемым, поскольку часто его клинические проявления неспецифичны независимо от того, какие органы или ткани оказываются поражёнными (3). Развивающийся амилоидоз может имитировать симптомы рака лёгких (4). Исследователи проявляют всё больший интерес к возможности индукции амилоидозов и, в том числе нейродегенеративных заболеваний амилоидными белками бактерий (5) и дрожжей (6), в том числе белками с амилоидными свойствами, локализованными на поверхности их клеток. Увеличивается интенсивность исследований, направленных на анализ воздействия на организм человека белков с амилоидными свойствами, содержащихся в пищевых продуктах (7). Очевидно, что существует необходимость в дальнейшем исследовании амилоидов, локализованных на поверхности микроорганизмов различной таксономической принадлежности, в том числе дрожжей, и их влияния на здоровье млекопитающих, включая человека. Амилоидогенная активность клеточной стенки дрожжей известна давно, хотя мало обсуждается: ответственные за это белки клеточной стенки и механизм процесса в настоящее время неизвестны. Было

показано, что лиофилизированные клетки *Candida albicans* при введении мышам линии CFW, в отличие от внутриклеточного содержимого, индуцировали развитие системного амилоидоза (8). Известно, что отложения амилоида могут возникать в ответ на инокуляцию экспериментальным животным бактерий, эндотоксина кишечной палочки, казеина или желатина, но после прекращения инъекций отложения амилоида постепенно уменьшались или исчезали (9,10). В случае введения мышам лиофилизированных клеток *Candida sp.* лабораторные животные погибли от системного амилоидоза через очень длительный период (400 дней) после последней инъекции (8).

Исследования клеточной стенки (КС) патогенных дрожжей *S. albicans* (11) и пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (12) явились одними из первых работ, в которых были частично охарактеризованы белки с амилоидными свойствами, входящими в состав этого компартмента. Примерами хорошо охарактеризованных белков с амилоидными свойствами поверхности дрожжевых клеток являются белок *Als C. albicans* (13), и консервативный мажорный белок клеточной стенки дрожжей – глюканозилтрансглюкозилаза Bgl2p (14,15). Bgl2p присутствует в КС аскомицетных дрожжей и у грибов рода *Aspergillus* (14,16). Данный белок из разных видов дрожжей демонстрирует высокую степень гомологии, антитела к Bgl2p *S. cerevisiae* реагируют с Bgl2p *C. albicans* (14,17). Bgl2p устойчив к гидролизу трипсина и протеиназы К в клеточной стенке и не может быть экстрагирован из клеточной стенки с помощью 1% SDS при 37°C, в отличие от многих других белков, нековалентно за-

крепленных в полисахаридном каркасе клеточных стенок (12). Bgl2p, выделенный из клеточных стенок *S. cerevisiae*, способен образовывать структуры, имеющие фибриллярную морфологию, четко идентифицируемую с помощью микроскопии (12,15). Белок Bgl2p, выделенный из клеточных стенок, индуцировал специфическую флуоресценцию тиофлавина Т и демонстрировал спектр кругового дихроизма, характерный для белка, обогащенного β -структурой (15,18), что также свидетельствует об амилоидной природе структур Bgl2p. Вероятно, этот белок играет ключевую роль в вирулентности патогенных видов дрожжей, поскольку делеция гена BGL2 снижает способность этих микроорганизмов инфицировать (14). Обнаружено также, что Bgl2p *C. albicans* также играет роль, подобную адгезину (17). Все эти данные вместе позволяют предположить, что Bgl2p является амилоидоподобным белком клеточной стенки дрожжей, который может быть ответственным за образование амилоида при контакте с клетками млекопитающих.

На первых этапах работы, направленной на изучение воздействия КС дрожжей *S. cerevisiae*, было показано что в случае инъекции мышам КС, полученных из клеток дрожжей дикого типа и обработанных протеиназой К, наблюдались изменения в поведении животных, а именно, сниже-

ние параметров их исследовательской активности (19,20), в органах этих мышей при использовании Тиофлавина Т были выявлены отложения амилоидов. Исследования проводили на линиях мышей CFW. Целью дальнейшего исследования являлось проведение скрининга изменений, происходящих в организме мышей в результате внутрибрюшинных инъекций суспензии клеточных стенок (КС) дрожжей *S. cerevisiae* и экстракта из КС, содержащих и не содержащих в своем составе белок с амилоидными свойствами Bgl2p. Исследования проводили на линиях мышей CFW и C57BL/6 с использованием КС дрожжей *S. cerevisiae* штамма дикого типа и штамма с делецией гена BGL2, кодирующего данный белок. О наличии белка Bgl2p в препарате для инъекций судили по данным иммуноблоттинга с антителами к данному белку. Способность к фибриллизации белка Bgl2p оценивали методами электронной микроскопии и флуоресцентного анализа с применением Тиофлавина Т. Показано, что во всех случаях, когда в инъекцируемом препарате присутствовал белок Bgl2p, у мышей развивались нарушения кожного покрова различной степени тяжести и облысение (табл. 1). Доля поражённых мышей в данной группе составила 72,8%.

Таблица 1. Степень облысения мышей, обработанных клеточными стенками дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, содержащих Bgl2p.

Степень облысения	Доля облысевших мышей	Площадь поражения спинки мышей
Слабая	27,3 %	12,3 %
Средняя	18,2 %	20,5 %
Сильная	27,3 %	53,5 %

Получены данные, характеризующие способность белка Bgl2p формировать фибриллы различной морфологии после выделения из КС. Сделан вывод о токсичном воздействии Bgl2p на организм мышей, предполагается возможность индукции у животных амилоидоза, вызванного контактом с белком Bgl2p. Другие компоненты КС дрожжей, токсичные для животных, не выявлены, однако не исключается их усиливающее воздействие на проявление токсических свойств Bgl2p (20).

Список литературы

- Chiti, F.; Dobson, C.M. Protein misfolding, functional amyloid, and human disease. *Annu Rev Biochem.* 2006, 75, 333-66.
- Gertz M.A., Dispenzieri A. Systemic Amyloidosis Recognition, Prognosis, and Therapy: A Systematic Review. *JAMA* 2020, 324(1): 79-89.
- Ihne S., Morbach C., Sommer C. et al. Amyloidosis – the Diagnosis and Treatment of an Underdiagnosed Disease. *Dtsch Arztebl Int* 2020, 117(10): 159-166.
- Fisch A.S., Fintelmann F.J., Garcia-Moliner M.L. Systemic Amyloidosis Mimicking Lung Cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 2020, 201(1): 107-108.
- Werner T., Horvath I., Wittung-Stafshede P. Crosstalk between alpha-synuclein and other human and non-human amyloidogenic proteins: consequences for amyloid formation in Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis* 2020, 10(3): 819-830.
- Wu Y., Du S., Johnson J.L. et al. Microglia and amyloid precursor protein coordinate control of transient *Candida cerebritis* with memory deficits. *Nat Commun* 2019, 10(1):58.
- Cao Y., Mezzenga R. Food protein amyloid fibrils: Origin, structure, formation, characterization, applications and health implications. *Adv Colloid Interface Sci* 2019, 269: 334-356.
- Mann SJ, Blank F. Systemic amyloidosis in mice inoculated with lyophilized *Candida* cells. *Infect Immun.* 1975, 11(6), 1371-4.
- Barth W, Gordon JK, Willerson JT. Amyloidosis induced in mice by *Escherichia coli* endotoxin. *Science* 1968, 162, 694-695.
- Janigan DT. Experimental amyloidosis. Studies with a modified casein method, casein hydrolysate and gelatin. *Am J Pathol.* 1965, 47, 159-171.
- Otoo H.N., Lee K.G., Qiu W. et al. *Candida albicans* Als adhesins have conserved amyloid-forming sequences. *Eukaryot Cell* 2008, 7(5):776-82.
- Kalebina T.S., Plotnikova T.A., Gorkovskii A.A. et al. Amyloid-like properties of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall glucantransferase Bgl2p: prediction and experimental evidences. *Prion* 2008, 2:91-6.
- Garcia M., Lipke P., Klotz S. Pathogenic microbial amyloids: Their function and the host response. *OA Microbiol.* 2013, 1(1): 2.
- Sarthy A.V., McGonigal T., Coen M., Frost D.J., Meulbroek J.A., Goldman R.C. Phenotype in *Candida albicans* of a disruption of the BGL2 gene encoding a 1,3-beta-glucosyltransferase. *Microbiology* 1997, 143(Pt 2): 367-376.

15. Bezsonov E.E., Groenning M., Galzitskaya O.V. et al. Amyloidogenic peptides of yeast cell wall glucantransferase Bgl2p as a model for the investigation of its pH-dependent fibril formation. *Prion* 2013, 7(2): 175-84..
16. Mouyna I., Hartl L., Latgé J.P. β -1,3-glucan modifying enzymes in *Aspergillus fumigatus*. *Front Microbiol* 2013, 17;4:81.
17. Jeng H.W., Holmes A.R., Cannon R.D. Characterization of two *Candida albicans* surface mannoprotein adhesins that bind immobilized saliva components. *Med Mycol* 2005, 43(3): 209-17.
18. Bezsonov EE, Kalebina TS, Gorkovskii AA, Kudriashova IB, Semisotnov GV, Kulaev IS. 2010. Temperature-induced conformational transitions of glucantransferase Bgl2p isolated from *Saccharomyces cerevisiae* yeast cell walls. *Mol Biol (Mosk)* 44(3):551-4.
19. Горковский А.А. Кандидатская диссертация, 2009.
20. Калебина Т.С., Рекстина В.В., Горковский А.А., Королев А.Г., Ерещенко М.И., Моторин Н.А. и др. Сочетанное воздействие белка с амилоидными свойствами Bgl2p и других компонентов клеточных стенок дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на состояние кожных покровов и поведение мышей. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2021, №3: 86-97.

ЭГОИСТИЧНЫЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ДНК ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Кашко Н.Д.; Кнорре Д.А.
НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского
МГУ имени М.В. Ломоносова

В клетках эукариот как правило содержится несколько копий молекул митохондриальных ДНК (мтДНК). Грибы не являются в этом плане исключением, даже в небольших по размеру клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* содержится от 10 до 25 молекул мтДНК на клетку [1]. Среднее значение количества молекул мтДНК на клетку может меняться в зависимости от питательной среды и фазы роста суспензионной культуры клеток дрожжей [2]. Репликация мтДНК происходит непрерывно даже в тех условиях, когда ядерная ДНК не реплицируется. Так, например, добавление альфа-фактора — полового феромона дрожжей — останавливает клеточный цикл в G1-фазе, но не предотвращает репликацию мтДНК [3].

Особая ситуация возникает, когда в результате делеции или точечной мутации в клетке появляется второй вариант мтДНК. Когда клетка содержит два или более вариантов мтДНК, различающихся по нуклеотидной последовательности, говорят, что она находится в состоянии “гетероплазмии” [4]. Если произошла обширная делеция, то один из вариантов мтДНК не будет содержать полного набора генов, необходимых митохондриям для выполнения своих функций. Эукариотические клетки способны различать и выбраковывать “ущербные” варианты мтДНК — проводить контроль качества мтДНК [5,6]. Мы ранее показали, что добавление протонофоров к зиготам пекарских дрожжей, находящихся в состоянии гетероплазмии, помогает им сохранить вариант мтДНК дикого типа и избавиться от мтДНК с обширной делецией [7]. Однако в обычных условиях варианты мтДНК с обширными делециями вытесняют варианты мтДНК дикого типа. Предполагается, что это происходит за счет большей скорости репликации молекул ДНК меньшего размера. Такие варианты мтДНК, имеющие преимущество в репликации внутри клетки и при этом не кодирующие набора белков и РНК, необходимых митохондриям для выполнения их функций, называют “эгоистичными мтДНК”.

В своей работе мы исследовали, как различные эгоистичные варианты мтДНК с обширными делециями вытесняют варианты мтДНК дикого типа в клетках дрожжей, находящихся в состоянии гетероплазмии. Целью нашей работы было определить, во сколько раз число копий эгоистичного варианта мтДНК увеличивается относительно варианта дикого типа за одно деление клетки. Для этого

мы отобрали 24 Rho- штамма дрожжей, которые потеряли способность расти на глицерине и при этом сохранили мтДНК. В полученных Rho- штаммах, с помощью высокопроизводительного секвенирования мы определили координаты произошедших делеций. Данные высокопроизводительного секвенирования позволили нам также определить число копий мтДНК на клетку для каждого из исследованных штаммов: для этого мы нормировали число чтений, картированных на последовательность мтДНК, на число чтений, картированных на последовательность ядерной ДНК. Число копий мтДНК в Rho- штаммах составляло от 14 до 3300 молекул на клетку, наибольшее число копий мтДНК на клетку наблюдалось в штамме, где в результате делеции от мтДНК осталось только 2197 п.н. (размер мтДНК *S.cerevisiae* дикого типа — 85000 п.н.).

Для мутантных вариантов мтДНК мы также определили, с какой вероятностью они вытесняют мтДНК дикого типа. Для этого мы скрещивали гаплоидные Rho- штаммы с гаплоидным штаммом дикого типа Rho+. Мы оценили, в какой доли получающихся диплоидных клетках сохраняется способность к окислительному фосфорилированию. Таким образом, мы выяснили, с какой вероятностью Rho- варианты мтДНК с обширными делециями вытесняют Rho+ вариант мтДНК в состоянии гетероплазмии. Взяв за основу полученные результаты, а также информацию о числе копий мтДНК на клетку в гаплоидных Rho+ и Rho- штаммах, мы подсчитали, что в условиях гетероплазмии Rho- вариант мтДНК за каждое деление клетки дрожжей может увеличивать свое число копий в 1.3 раза относительно Rho+ варианта.

Полученная оценка показывает, что спонтанная делеция в единичной молекуле мтДНК дрожжей может привести к появлению варианта Rho- мтДНК, который быстро (за 10-20 поколений) вытеснит исходный вариант Rho+ мтДНК дикого типа. В результате этого процесса клетка теряет способность к окислительному фосфорилированию. Полученные данные согласуются с тем, что культуры лабораторных штаммов дрожжей содержат большое количество спонтанных petite мутантов, не способных к утилизации несбраживаемых субстратов [8]. Мы предполагаем, что в мицелиальных грибах, а также в природных штаммах дрожжей, могут функционировать механизмы, препят-

ствующие распространению таких эгоистичных вариантов мтДНК с обширными делециями.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 22-14-00108

Список литературы

1. Puddu, F., Herzog, M., Selivanova, A., Wang, S., Zhu, J., Klein-Lavi, S. et al. (2019) Genome architecture and stability in the *Saccharomyces cerevisiae* knockout collection, *Nature*, 573, 416–420.
2. Galeota-Sprung, B., Fernandez, A. and Sniegowski, P. (2022) Changes to the mtDNA copy number during yeast culture growth, *R Soc Open Sci*, 9, 211842.
3. Petes, T.D. and Fangman, W.L. (1973) Preferential synthesis of yeast mitochondrial DNA in alpha factor-arrested cells, *Biochem Biophys Res Commun*, 55, 603–609.
4. Stewart, J.B. and Chinnery, P.F. (2015) The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: implications for human health and disease, *Nat Rev Genet*, 16, 530–542.
5. Busch, K.B., Kowald, A. and Spelbrink, J.N. (2014) Quality matters: how does mitochondrial network dynamics and quality control impact on mtDNA integrity?, *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 369, 20130442.
6. Knorre, D.A. (2020) Intracellular quality control of mitochondrial DNA: evidence and limitations, *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 375, 20190176.
7. Karavaeva, I.E., Golyshev, S.A., Smirnova, E.A., Sokolov, S.S., Severin, F.F. and Knorre, D.A. (2017) Mitochondrial depolarization in yeast zygotes inhibits clonal expansion of selfish mtDNA, *J Cell Sci*, 130, 1274–1284.
8. Dimitrov, L.N., Brem, R.B., Kruglyak, L. and Gottschling, D.E. (2009) Polymorphisms in multiple genes contribute to the spontaneous mitochondrial genome instability of *Saccharomyces cerevisiae* S288C strains, *Genetics*, 183, 365–383.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ИНГИБИРОВАНИЯ АТФАЗНОЙ АКТИВНОСТИ АТФ-СИНТАЗЫ ДРОЖЖЕЙ

Лапашина, А.С.^{1,2,3}; Галкина, К.В.^{1,2}; Кашко, Н.Д.^{1,2}; Зубарева, В.М.^{1,2}; Маркова, О.В.¹; Кнорре, Д.А.^{1,2}; Фенюк, Б.А.^{1,2}

¹НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского и ²Факультет биоинженерии и биоинформатики, МГУ имени М.В. Ломоносова
³Кафедра биологической химии, Сеченовский Университет, Москва

Окислительное фосфорилирование — один из основных механизмов преобразования энергии в живых клетках. При окислительном фосфорилировании ферменты дыхательной цепи митохондрий генерируют на внутренней мембране трансмембранную разность электрохимического потенциала протонов ($\Delta\mu\text{H}^+$). Протоны переносятся через мембрану вниз по градиенту через FOF1-АТФ-синтазу (FOF1), которая синтезирует АТФ из АДФ и неорганического фосфата. Когда $\Delta\mu\text{H}^+$ падает ниже термодинамического порога синтеза АТФ, активность FOF1 обращается, и фермент генерирует $\Delta\mu\text{H}^+$, гидролизует АТФ [1]. Для митохондриальных FOF1 описано два способа регуляции АТФазной активности. Первый из них — это АДФ-ингибирование, которое происходит, когда MgАДФ оказывается связан в каталитическом сайте фермента без фосфата, и фермент с некоторой вероятностью инактивируется и перестает гидролизовать АТФ [2]. Второй опосредуется небольшим белком IF1, который при падении $\Delta\mu\text{H}^+$ и закислении митохондриального матрикса связывается с каталитическим ядром FOF1 и ингибирует гидролиз АТФ [3].

Физиологическая роль этих ингибиторных механизмов могла бы заключаться в том, чтобы сохранять АТФ в условиях падения $\Delta\mu\text{H}^+$: например, в условиях недостатка кислорода или при голодании. Однако до сих пор эта гипотеза не была подтверждена, в особенности на клетках эукариот. В данной работе мы исследовали этот вопрос на пекарских дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*. Для этого мы получили и исследовали несколько мутантных штаммов дрожжей. В одном из были делетированы гены *INH1* и *STF1*, кодирующие у дрожжей гомологи ингибиторного белка IF1 [4], в других белки *Inh1p* или *Stf1p* были слиты с зеленым флуоресцентным белком GFP для наблюдения за их накоплением в клетках. Кроме того, мы ввели точечную замену в каталитическую субъединицу FOF1; аналогичная замена в бактериальной АТФ-синтазе приводила к ослаблению

MgАДФ-ингибирования [5], и мы ожидали схожий эффект в ферменте дрожжей.

Перед тем как изучить влияние делеций *Inh1p* и *Stf1p* на физиологию дрожжей, мы определили, в каких условиях происходит накопление этих белков в клетке. Для этого мы при помощи флуоресцентной микроскопии и цитофлуориметрии наблюдали за дрожжами штамма YU4741, содержащими химеры этих белков с GFP. Здесь и в других опытах по исследованию роста дрожжей мы использовали несколько сред: с глюкозой (сбраживаемый источник углерода, который клетка может использовать для синтеза АТФ за счет субстратного фосфорилирования), с раффинозой или галактозой (слабосбраживаемые источники углерода) или, наконец, с глицерином или лактатом (несбраживаемые источники углерода, т.е. при росте на таких средах клетки синтезируют АТФ исключительно путем окислительного фосфорилирования). В экспоненциальной фазе роста содержание *Inh1p-GFP* и *Stf1p-GFP* было низким при росте на глюкозе и более выраженным при росте на слабо- или несбраживаемых источниках углерода. При переходе к голоданию (стационарная фаза роста) уровень флуоресценции *Stf1p-GFP* возрастал; этот эффект был ярче всего заметен при росте на глюкозе. В случае *Inh1p-GFP* такой эффект наблюдался только на глюкозе. При этом мы наблюдали заметную гетерогенность клеточной популяции: флуоресценция *Inh1p-GFP* присутствовала лишь в части клеток. Мы проследили судьбу клеток из обеих субпопуляций при переносе из стационара в свежую среду, фотографируя их через 4 ч после этого переноса. Оказалось, что доля клеток, образующих почку в течение этих 4 ч, в среднем выше для тех, которые содержали *Inh1p-GFP*, чем для тех, которые его не содержали ($16,6 \pm 6,8\%$ и $2,0 \pm 1,4\%$ соответственно, даны средние \pm среднеквадратическое отклонение). Таким образом, *Inh1*-зависимое ингибирование АТФазной активности АТФ-синтазы, по-видимому, позволяет клетке быстрее запустить процесс деления после голодания [6].

Несмотря на описанный выше результат, мутантный штамм дрожжей, не содержащий ни *Inh1p*, ни *Stf1p* (*W303 Dnh1Δstf1*), не отличался от родительского штамма по скорости восстановления после голодания. В этих опытах клетки дрожжей засеивали в среду с глюкозой, инкубировали в течение 10 дней, а затем переносили в свежую среду и определяли продолжительность лаг-фазы, т.е. время, за которое достигалась максимальная скорость роста (μ_{\max}). Сама по себе μ_{\max} для двух штаммов оказалась также очень схожей на всех тестируемых средах. Схожим был и уровень АТФ в клетках двух штаммов как в экспоненциальной фазе роста, так и в стационаре. Наконец, устойчивость к стрессам (нагревание, повышенное содержание соли или этанола, окислительный стресс, присутствие протонофоров) у мутантного и родительского штаммов также не отличалась. Возможно, в отсутствие *Inh1p* и *Stf1p* их функцию в сохранении АТФ в клетке выполняет АДФ-ингибирование FOF1 [6].

Мы также оценили эффект делеции *INH1* и *STF1* на фоне мутации *rho0* — делеции митохондриальной ДНК, кодирующей мембранные субъединицы комплексов дыхательной цепи и АТФ-синтазы. Мутант *Dnh1Δstf1 rho0* при выращивании в богатой среде с глюкозой демонстрировал повышенную μ_{\max} в сравнении с контрольным штаммом. Известно, что в матриксе митохондрий *rho0*-клеток свободный F1-субкомплекс АТФ-синтазы гидролизует АТФ до АДФ, который затем электрогенно обменивается на цитоплазматический АТФ через АТФ/АДФ-антипортер. Таким образом клетка может поддерживать на внутренней митохондриальной мембране $\Delta\mu_{\text{H}^+}$, необходимый для пролиферации [7]. В отсутствие *Inh1p* и *Stf1p* этот процесс, вероятно, идет эффективнее.

Следующая часть нашей работы была посвящена второму механизму регуляции АТФазной активности FOF1 — АДФ-ингибированию. Эксперименты, проведенные в нашей лаборатории ранее на FOF1 *Bacillus subtilis* и *Bacillus sp.* PS3, показали, что выраженность MgАДФ-ингибирования модулируется единичной аминокислотой в каталитической субъединице β . Замена β Q259L в FOF1 этих организмах значительно ослабила АДФ-ингибирование [5,8]. Мы ввели аналогичную замену, β Q263L, в АТФ-синтазу дрожжей и исследовали поведение фермента в составе пермеабилитизированных митохондрий и субмитохондриальных частиц (СМЧ) в АТФ-регенерирующей системе. Скорость гидролиза АТФ митохондриями и СМЧ, полученными из дрожжей с мутацией, снижалась при добавлении АДФ заметно слабее, чем в случае дрожжей дикого типа. Кроме того, АТФазная активность митохондрий и СМЧ с мутантным FOF1 была менее чувствительна к азиду — ингибитору, “запирающему” фермент в АДФ-ингибированном состоянии. Наконец, активность митохондрий с мутантным FOF1 не стимулировалась лауридиметиламинооксидом (LDAO) — детергентом, освобождающим фермент от АДФ-ингибирования. В случае митохондрий с FOF1 дикого типа LDAO стимулировал АТФазную активность в несколько раз. Эти результаты говорят, что замена β Q263L ослабила выраженность АДФ-ингибирования АТФазной активности FOF1 у *S. cerevisiae* [9].

Далее мы сравнили скорость роста дрожжей с заменой β Q263L с таковой у родительского штамма. На всех средах

(со сбраживаемым, слабо- или несбраживаемым источником углерода) мутант с ослабленным АДФ-ингибированием демонстрировал пониженную μ_{\max} в сравнении с родительским штаммом. Кроме того, мутантный штамм медленнее возобновлял свой рост после голодания в течение 2-10 дней. Более продолжительная у мутанта лаг-фаза после переноса в свежую среду свидетельствует о том, что АДФ-ингибирование АТФазной активности FOF1 важно для сохранения жизнеспособности дрожжевой клетки в период голодания [9].

Аналогичные эксперименты на дрожжах с мутацией *rho0* дали обратный результат. На всех тестируемых питательных средах штамм *rho0* с ослабленным АДФ-ингибированием демонстрировал более высокую скорость роста, чем мутант *rho0* с нативной АТФ-синтазой. По-видимому, как и в случае с мутантом *rho0* без IF1-ингибирования (*Dnh1Δstf1*), сохранение АТФазной активности F1 в матриксе митохондрий с дисфункцией дыхательной цепи оказывается выигрышным для клетки, которая в этом случае может более эффективно поддерживать $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ на внутренней мембране митохондрий за счет обмена митохондриального АДФ на цитоплазматический АТФ через АТФ/АДФ-антипортер [9].

Работа поддержана грантом РНФ №20-14-00268.

Список литературы

- Zubareva VM, Lapashina AS, Shugaeva TE, Litvin AV, Feniouk BA. Rotary Ion-Translocating ATPases/ATP Synthases: Diversity, Similarities, and Differences. *Biochemistry (Moscow)*. 2020;85: 1613–1630.
- Lapashina AS, Feniouk BA. ADP-Inhibition of H⁺-FOF1-ATP Synthase. *Biochemistry (Moscow)*. 2018;83: 1141–1160.
- García-Bermúdez J, Cuezva JM. The ATPase Inhibitory Factor 1 (IF1): A master regulator of energy metabolism and of cell survival. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1857: 1167–1182.
- Ichikawa N, Yoshida Y, Hashimoto T, et al. Activation of ATP hydrolysis by an uncoupler in mutant mitochondria lacking an intrinsic ATPase inhibitor in yeast. *J Biol Chem*. 1990;265: 6274–6278.
- Lapashina AS, Feniouk BA. Mutation Q259L in subunit beta in *Bacillus subtilis* ATP synthase attenuates ADP-inhibition and decreases fitness in mixed cultures. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019;509: 102–107.
- Galkina KV, Zubareva VM, Kashko ND, et al. Heterogeneity of Starved Yeast Cells in IF1 Levels Suggests the Role of This Protein in vivo. *Front Microbiol*. 2022;13: 816622.
- Liu S, Liu S, He B, et al. OXPHOS deficiency activates global adaptation pathways to maintain mitochondrial membrane potential. *EMBO Rep*. 2021;22: e51606.
- Feniouk BA, Wakabayashi C, Suzuki T, Yoshida M. A point mutation, betaGln259Leu, relieves MgADP inhibition in *Bacillus* PS3 ATP synthase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. Elsevier B.V.; 2012. p. S13.
- Lapashina AS, Kashko ND, Zubareva VM, et al. Attenuated ADP-inhibition of FOF1 ATPase mitigates manifestations of mitochondrial dysfunction in yeast. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*. 2022;1863: 148544.

ДРОЖЖИ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ДВУКРЫЛЫМИ, ОБИТАЮЩИМИ В ЛИТОРАЛЬНЫХ ВАННАХ БЕЛОГО МОРЯ

Максимова И.А., Яковлева Е.Ю.
МГУ имени М.В. Ломоносова

Согласно «Хологеномной теории эволюции» единицей отбора целесообразно считать не отдельный макроорганизм, а холобионт (Margulis, Fester, 1991), т. е. макроорганизм и ассоциированных с ним микроорганизмов (Rosenberg et al., 2007, 2009; Bordenstein, Theis, 2015). В связи с этим в последние годы растет интерес к изучению механизмов, лежащих в основе сложных взаимоотношений между хозяином и его микробиомом. Исследователи накопили уже немало примеров, в которых микроорганизмы оказывают существенное влияние на развитие, физиологию, адаптацию к условиям среды, поведение и эволюцию своих хозяев, макроорганизмов, (Rozenberg et al., 2007; Zilber-Rosenberg, Rosenberg, 2008; Lee, Brey, 2013; Яковлева и др., 2022). Среди них кораллы, насекомые и другие членистоногие, не говоря уже о млекопитающих с разнообразной микробиотой, обитающей у них (нас) в желудочно-кишечном тракте. Одним из удобных объектов для изучения взаимоотношений между макро- и микроорганизмами стала плодовая мушка *Drosophila melanogaster*, излюбленный модельный объект биологов из разных областей. Ее микробиом, с одной стороны, сравнительно прост, с другой – функционально схож с более сложными микробиомами млекопитающих, в том числе человека (Erkosar et al., 2013; Hoang et al., 2015; Trinder et al., 2017). Однако большинство исследований в данной области сконцентрировано на кишечных бактериях дрозофил (Brummel et al., 2004; Wong et al., 2014, 2016), а симбиотическим дрожжам уделяется значительно меньшее внимание. Между тем дрожжи – важный компонент симбиотического микробиома дрозофил: они являются важной частью рациона личинок и имаго, оказывают влияние на выживание, рост и развитие личинок, массу тела, плодовитость и продолжительность жизни имаго, работу иммунной системы и поведение дрозофил (Starmer et al., 1986; Hoang et al., 2015; Stamps et al., 2012).

Нами ранее было показано, что дрожжи вносят существенный вклад в адаптацию дрозофил к неблагоприятным кормовым субстратам с повышенной концентрацией NaCl. Известно, что для дрозофил концентрация NaCl в корме превышающая 2–3%, является негативным фактором, замедляющим развитие и повышающим смертность (Te Velde et al., 1988). В ходе ряда эволюционных экспериментов было показано, что дрозофилы способны за несколько десятков поколений адаптироваться к концентрациям соли до 6–8% (Te Velde et al., 1988). Традиционно считалось, что наблюдаемая в таких экспериментах адаптация является результатом изменений в генофонде лабораторной популяции дрозофил. Однако нами было показано, что немалый вклад вносят дрожжи. Наибольший положительный эффект на адаптацию мушек к соленому корму оказывают дрожжи *Starmerella bacillaris*, которые обнаруживаются на стадии адаптации мушек к соленому корму, но отсутствуют на контрольных и уже адаптировавшихся к соли линиях (Dmitrieva et al., 2019; Дмитриева и др., 2022).

Адаптация дрозофил к соленому корму – удобная и часто используемая модель для эволюционных экспериментов, которая в то же время является несколько искусственной, потому что дрозофилы не живут на субстратах с повышенной соленостью. Впрочем, среди двукрылых

есть виды, личинки которых развиваются в прибрежной зоне морей и океанов – специализированные обитатели соленых субстратов. Например, личинки многих видов мух из семейств *Anthomyiidae*, *Coelopidae*, *Heterocheilidae*, *Helcomyzidae* развиваются в прибрежной зоне морей и океанов в выброшенных на берег водорослях (Dobson, 1976), а водные личинки некоторых видов семейства *Ephydriidae* питаются детритом на дне водоемов с крайне высокой соленостью, таких как озеро Моно в Калифорнии, где большинство других водных животных не выживает (Herbst, 1988, 2001).

Экспериментальные данные о вкладе дрожжевого микробиома в адаптацию лабораторных линий дрозофил к соленому корму позволяют предположить, что и у настоящих солелюбивых (или солевыносливых) двукрылых адаптация к субстратам с высокой соленостью может быть связана с теми или иными видами симбиотических дрожжей, переносимых в кишечнике или на поверхности тела. Проверка этого предположения затрудняется тем, что о симбиотических дрожжах таких двукрылых практически ничего не известно. Несколько лет назад нами были опубликованы данные о количественном и качественном составе дрожжевых сообществ, ассоциированных с имаго двух видов солевыносливых двукрылых с побережья Белого моря: *Paracoenia fumosa* (сем. *Ephydriidae*) и *Fucellia fucorum* (сем. *Anthomyiidae*) (Максимова и др., 2020). Известно, что дрожжи являются важным источником пищи и биологически активных веществ для личинок многих насекомых, поэтому в настоящей работе мы предприняли попытку сравнить дрожжевое население не только имаго, но и личинок значительно большего количества видов мух из различных семейств, обитающих на соленых субстратах Белого моря. Нам удалось изучить дрожжи, ассоциированные с мухами из сем. *Ephydriidae* (личинки и куколки 2 видов и имаго 6 видов), сем. *Anthomyiidae* (имаго вида *Fucellia fucorum*), сем. *Syrphidae* (личинки вида *Eristalinus sepulchralis*), сем. *Sepsidae* (личинки вида *Themira putris*), сем. *Sphaerooceridae* (имаго 2 видов), сем. *Calliphoridae* (личинки 1 вида), сем. *Tabanidae* (личинки вида из рода *Tabanus*), сем. *Dolichopadidae* (имаго 1 вида). Микробиота поверхности тела и кишечника изучалась отдельно, также дрожжи с мух были сопоставлены с дрожжевым сообществом субстратов, на которых они обитают. Мы выяснили, что дрожжевое сообщество насекомых не тождественно дрожжевому сообществу их субстратов; дрожжевой микробиом разных стадий развития мух может существенно отличаться; в дрожжевом сообществе мух есть как случайная компонента, так и виды, обнаружение которых воспроизводится регулярно. Собранные данные показывают, что зависимость мух от дрожжей и роль дрожжей в питании хозяина для разных видов существенно различается. Так личинки и куколки эфидриды вида *Paracoenia fumosa* характеризуются скудным дрожжевым сообществом, аналогично обстоит ситуация с личинками мух из сем. *Tabanidae* и *Syrphidae*. Напротив, кишечник как личинок, так и имаго эфидрид вида *Ephydra riparia* наполнен различными дрожжами, что говорит о важности дрожжей в питании этого вида. Причем у личинок часто встречаются представители родов *Cystofilobasidium*,

Debaryomyces, *Leucosporidium*, *Rhodotorula* и *Vishniacozyma*, а для имаго характерны дрожжи *Aureobasidium pullulans*, *Vishniacozyma tephrensensis* и *Vishniacozyma victoriae*.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №22-24-00156)

Список литературы

1. Дмитриева А. С., Яковлева Е. Ю., Максимова И. А., Белов А.А., Марков А.В. Изменения комплекса симбиотических дрожжей *Drosophila melanogaster* при адаптации мух к субстратам с повышенным содержанием NaCl // Журнал общей биологии. 2022. Т. 83. № 1. С. 29–37.
2. Максимова И.А., Качалкин А.В., Яковлева Е.Ю., Кривошеина М.Г., Марков А.В. Дрожжевые сообщества, ассоциированные с двукрылыми насекомыми литорали Белого моря // Микробиология. 2020. Т. 89. № 2, С. 214–221
3. Яковлева Е. Ю., Мерзликин Д. С., Завьялов А. Е., Маслов А.А., Миронова Е.А., Марков А.В. Вклад генов и симбиотической микробиоты в увеличение продолжительности жизни мух *Drosophila melanogaster*, отбираемых на позднее размножение // Журнал общей биологии. 2022. Т. 83. № 4. С. 268–287.
4. Bordenstein S.R., Theis K.R. Host biology in light of the microbiota: ten principles of holobionts and hologenomes. // PLoS Biol. 2015. V. 13. № 8. e1002226.
5. Brummel T., Ching A., Seroude L., Simon A.F., Benzer S. *Drosophila* lifespan enhancement by exogenous bacteria. // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 12974–12979.
6. Erkosar B, Storelli G, Defaye A, Leulier F. Host-intestinal microbiota mutualism: «learning on the fly». // Cell Host Microbe. 2013. V. 13. P. 8–14.
7. Dmitrieva A.S., Ivnitky S.B., Maksimova I.A., Panchenko P.L., Kachalkin A.V., Markov A.V. Yeasts affect tolerance of *Drosophila melanogaster* to food substrate with high NaCl concentration // PLoS ONE. 2019. V. 14. № 11: e0224811
8. Dobson T. Seaweed flies (Diptera: Coelopidae, etc.) / L. Cheng (ed.). Marine Insects. Amsterdam – Oxford: North Holland Publishing Company; NY: Elsevier. 1976.
9. Herbst D.B. Comparative population ecology of Ephydrians Say (Diptera: Ephydriidae) at Mono Lake (California) and Abert Lake (Oregon) // Hydrobiologia. 1988. 158: 145–166.
10. Herbst D.B. Gradients of salinity stress, environmental stability and water chemistry as a template for defining habitat types and physiological strategies in inland salt waters // Hydrobiologia. 2001. V. 466. P. 209–219.
11. Hoang D., Kopp A., Chandler J.A. Interactions between *Drosophila* and its natural yeast symbionts — Is *Saccharomyces cerevisiae* a good model for studying the fly-yeast relationship? // PeerJ. 2015; 3:e1116.
12. Lee W.-J., Brey P.T. How Microbiomes Influence Metazoan Development: Insights from History and *Drosophila* Modeling of Gut-Microbe Interactions // Annual Review of Cell and Developmental Biology. 2013. V. 29. P. 571–592.
13. Margulis L., Fester R. Symbiosis as a Source of evolutionary innovation: speciation and morphogenesis. Boston: MIT Press; 1991.
14. Broderick N.A., Lemaitre B. (2012) Gut-associated microbes of *Drosophila melanogaster*, Gut Microbes, 3:4, 307–321, DOI: 10.4161/gmic.19896
15. Rosenberg E, Koren O, Reshef L, Efrony R, Zilber-Rosenberg I. The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. // Nat. Rev. Microbiol. 2007. V. 5. № 5. P. 355–362.
16. Rosenberg E., Sharon G., Zilber-Rosenberg I. The hologenome theory of evolution contains Lamarckian aspects within a Darwinian framework. // Envir. Microbiol. 2009. V. 11 № 12. P. 2959–2962.
17. Stamps J.A., Yang L.H., Morales V.M., Boundy-Mills K.L. *Drosophila* regulate yeast density and increase yeast community similarity in a natural substrate. // PLoS One. 2012; 7(7):e42238.
18. Starmer W.T., Barker J.S.F., Phaff H.J., Fogleman J.C. Adaptations of *Drosophila* and Yeasts: their Interactions with the Volatile 2-propanol in the Cactus-Microorganism-*Drosophila* Model System. // Aust. J. Biol. Sci. 1986. V. 39. P. 69–77.
19. Te Velde J.H., Molthoff C.F.M., Scharloo W. The function of anal papillae in salt adaptation of *Drosophila melanogaster* larvae. // J. Evol. Biol. 1988. V. 2. P. 139–153.
20. Trinder M., Daisley B.A., Dube J.S., Reid G. *Drosophila melanogaster* as a High-Throughput Model for Host-Microbiota Interactions // Frontiers in Microbiology. 2017. V. 8. Article 751.
21. Zilber-Rosenberg I., Rosenberg E. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution. // FEMS Microbiol. Rev. 2008;32:723–735.
22. Wong AC-N, Dobson AJ, Douglas AE. Gut microbiota dictates the metabolic response of *Drosophila* to diet. // Journal of Experimental Biology. 2014. V. 217. P. 1894–1901.
23. Wong A.C.-N., Vanhove A.S., Watnick P.I. The interplay between intestinal bacteria and host metabolism in health and disease: lessons from *Drosophila melanogaster* // Disease Models & Mechanisms. 2016. V. 9. P. 271–281.

АКТИВАЦИЯ СИСТЕМЫ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ДРОЖЖЕЙ *S. CEREVISIAE* ПУТЕМ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ КОММУНИКАЦИИ

Носкова Е.О.^{1,*}, Киреева Н.А.^{1,2}, Кнорре Д.А.^{1,2}, Галкина К.В.^{1,2}

¹Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ имени М.В. Ломоносова

²Институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова

Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) - это пониженная восприимчивость клеток к воздействию чужеродных веществ (ксенобиотиков), в том числе и к действию лекарственных препаратов [1]. Формирование МЛУ является не только научной, но и медицинской проблемой при лечении заболеваний, вызываемых микроорганизмами. Большое количество патогенных организмов встре-

чается и среди грибов, например, дрожжи рода *Candida* вызывают микозы. Такие заболевания трудно поддаются диагностике и обладают высокой летальностью [2].

Основной вклад в появлении устойчивости дрожжевых клеток к ксенобиотикам вносят трансмембранные переносчики с низкой субстратной специфичностью. Эти белки способны выкачивать из клетки широкий спектр соедине-

ний. При этом часть из них для выкачивания субстрата использует энергию переноса протона - MFS (major facilitator superfamily), а часть использует энергию гидролиза АТФ - ABC (ATP-binding cassette) [3]. Известно, что сверхэкспрессия генов ABC-переносчиков коррелирует с возникновением МЛУ у дрожжей [2]. В ответ на появление в клетке субстрата ABC-переносчиков происходит активация системы МЛУ за счет транскрипционных факторов Pdr1 и Pdr3, которые стимулируют экспрессию генов ABC-переносчиков [4]. В штаммах дрожжей с делецией генов PDR1 и PDR3 не происходит активации системы МЛУ, в то время как в клетках дикого типа экспрессия генов ABC-переносчиков увеличивается в ответ на воздействие ксенобиотиков-индукторов МЛУ [2]. Кроме того, уровень метаболизма и условия роста клеток тоже влияют на активность системы МЛУ [5]. ABC-переносчики пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* обладают высоким структурным и функциональным сходством с переносчиками патогенных грибов, поэтому этот вид дрожжей является хорошим модельным организмом для изучения МЛУ [6]. Основным ABC-переносчиком, обеспечивающим *S. cerevisiae* МЛУ является белок Pdr5 [7].

Помимо откачивания из клетки ксенобиотиков, микроорганизмы могут выделять наружу наработанные в клетке вещества для передачи сигналов между собой. Это явление называется чувством кворума, а сигнальные молекулы — факторами чувства кворума. Грибы также способны к межклеточной коммуникации. В качестве сигнальных молекул они используют продукты вторичного метаболизма, например ароматические спирты: тирозол, фарнезол, триптофол, фенилэтанол-2 [8,9,10]. С помощью межклеточной коммуникации многоклеточные грибы могут координировать переход между жизненными формами, образование конидий или апоптоз [11,12]. Дрожжи с помощью чувства кворума контролируют плотность культуры и формирование биопленок [8]. Это позволяет им лучше адаптироваться к условиям окружающей среды. Кроме того, факторы чувства кворума - ароматические спирты - могут участвовать в регуляции системы МЛУ. Например, было показано, что в клетках дрожжей *Candida albicans* ароматический спирт фарнезол ингибирует активность ABC-переносчиков CaCdr1p и CaMdr1p, тем самым увеличивая эффективность противогрибковых препаратов — азолов [13].

Опираясь на эти данные, мы выдвинули гипотезу, что в случае стресса секретируемые клеткой вторичные метаболиты могут служить сигналом к активации МЛУ в соседних клетках. Клетки, находящиеся на внешней части дрожжевой колонии и уже столкнувшиеся с воздействием токсического агента, могли бы за счет активации МЛУ передавать “сигнал тревоги” клеткам внутри колонии, откачивая в среду метаболит, служащий сигнальной молекулой. Подобная способность клеток внутри колонии активировать свою систему МЛУ до непосредственного воздействия на них токсичного вещества, гипотетически может снизить пагубное воздействие на них токсина и увеличить шанс выживания клеток в колонии.

Для проверки данной гипотезы мы исследовали уровень активности МЛУ в дрожжевых клетках “реципиентах” после их совместной инкубации с клетками “донорами” с высоким уровнем активности МЛУ. В качестве реципиентов мы использовали штамм *S. cerevisiae*, в котором их основной МЛУ переносчик Pdr5 был сшит с GFP. Количество Pdr5-GFP в цитоплазматической мембране клеток-реципиентов после их совместной инкубации с клетками-донора-

ми мы оценивали с помощью флуоресцентной микроскопии.

Отбор штаммов-доноров производился по двум параметрам: количество переносчиков МЛУ и их активность. Мы выращивали штаммы до стационарной и экспоненциальной фазы роста в синтетической питательной среде с глюкозой (YNB), а также на богатых средах с различными источниками углерода: глюкоза (YPD), лактат (YPLac), глицерин (YPGly) и раффиноза (YPRaf). Для оценки количества переносчиков МЛУ мы измеряли флуоресценцию Pdr5-GFP в штаммах-кандидатах с помощью проточной цитометрии. Наибольший уровень флуоресценции мы наблюдали в штаммах PTEF1-PDR5-GFP и Δ rdr1 Rho0 PDR5-GFP, выращенных до экспоненциальной фазы на жидкой питательной среде YPD. В штамме PTEF1-PDR5-GFP ген ABC-переносчика PDR5 находится под сильным конститутивным промотором. Штамм Δ rdr1 Rho0 PDR5-GFP - это штамм с делецией гена белка супрессора МЛУ RDR1 и без митохондриальной ДНК.

Высокий уровень флуоресценции GFP в этих штаммах свидетельствовал о повышенной экспрессии PDR5 и, как следствие, об активной работе системы МЛУ. При выборе штаммов-доноров мы анализировали не только количество ABC-переносчика Pdr5 в мембране клетки, но и совокупную активность всех переносчиков МЛУ. Для этого с помощью проточной цитометрии мы оценивали способность разных штаммов выкачивать из клеток флуоресцентный субстрат ABC-переносчиков Нильский красный. Штаммы Rho0 и Δ rdr1 Rho0 эффективнее других откачивали из себя Нильский красный, что свидетельствовало о высокой активности их системы МЛУ.

На основе этих экспериментов в качестве штаммов-доноров для совместной инкубации мы использовали штаммы PTEF1-PDR5, Rho0 и Δ rdr1 Rho0. Выводы об активации системы МЛУ в клетках-реципиентах делались на основе уровня флуоресценции Pdr5-GFP в мембране этих клеток после их инкубации с одним из штаммов доноров. В качестве контроля мы инкубировали клетки-реципиенты со штаммом-донором с неактивной системой МЛУ Δ pdr1 Δ pdr3. Оказалось, что совместная инкубация со штаммами Rho0 и Δ rdr1 Rho0 приводит к значительному увеличению количества Pdr5-GFP в мембране клеток-реципиентов. Инкубации со штаммом PTEF1-PDR5 не приводила к такому сильному эффекту. Наши эксперименты с Нильским красным также свидетельствовали о более низкой суммарной активности МЛУ в штамме PTEF1-PDR по сравнению со штаммами Rho0 и Δ rdr1 Rho0. Видимо, высокой активности исключительно переносчика Pdr5 недостаточно для стимуляции МЛУ в соседних клетках.

Таким образом, полученные в данной работе данные указывают на то, что клетки *S. cerevisiae* с высоким уровнем активности МЛУ переносчиков могут стимулировать активацию МЛУ в соседних клетках.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №22-24-00406.

Список литературы

- Higgins, Christopher F. «Multiple Molecular Mechanisms for Multidrug Resistance Transporters». *Nature* 446, вып. 7137 (12 апрель 2007 г.): 749–57.
- Cannon, R. D., A. R. Holmes, A. B. Mason и B. C. Monk. «Oral Candida: Clearance, Colonization, or Candidiasis?» *Journal of Dental Research* 74, вып. 5 (май 1995 г.): 1152–61.

3. Del Sorbo, G., H. Schoonbeek и M. A. De Waard. «Fungal Transporters Involved in Efflux of Natural Toxic Compounds and Fungicides». *Fungal Genetics and Biology: FG & B* 30, вып. 1 (июнь 2000 г.): 1–15.
4. Thakur, Jitendra K., Dominique P. Frueh и соавт. «A Nuclear Receptor-like Pathway Regulating Multidrug Resistance in Fungi». *Nature* 452, вып. 7187 (3 апрель 2008 г.): 604–9.
5. Traven, A., J. M. Wong, D. Xu, M. Sopta и C. J. Ingles. «Interorganellar Communication. Altered Nuclear Gene Expression Profiles in a Yeast Mitochondrial Dna Mutant». *The Journal of Biological Chemistry* 276, вып. 6 (9 февраль 2001 г.).
6. Bauer, B. E., H. Wolfger и K. Kuchler. «Inventory and Function of Yeast ABC Proteins: About Sex, Stress, Pleiotropic Drug and Heavy Metal Resistance». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1461, вып. 2 (6 декабрь 1999 г.): 217–36.
7. Wolfger, H., Y. M. Mamnun и K. Kuchler. «Fungal ABC Proteins: Pleiotropic Drug Resistance, Stress Response and Cellular Detoxification». *Research in Microbiology* 152, вып. 3–4 (май 2001 г.): 375–89.
8. Wuster, Arthur и M. Madan Babu. «Chemical Molecules That Regulate Transcription and Facilitate Cell-to-Cell Communication». В *Wiley Encyclopedia of Chemical Biology*, 1–11. John Wiley & Sons, Ltd, 2008.
9. Chen, Hao и Gerald R. Fink. «Feedback Control of Morphogenesis in Fungi by Aromatic Alcohols». *Genes & Development* 20, вып. 9 (5 январь 2006 г.): 1150–61.
10. Avbelj, Martina, Jure Zupan, Luka Kranjc и Peter Raspor. «Quorum-Sensing Kinetics in *Saccharomyces cerevisiae*: A Symphony of ARO Genes and Aromatic Alcohols». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63, вып. 38 (30 сентябрь 2015 г.): 8544–50.
11. Wongsuk, Thanwa, Potjaman Pumeesat и Natthanej Luplertlop. «Fungal Quorum Sensing Molecules: Role in Fungal Morphogenesis and Pathogenicity». *Journal of Basic Microbiology* 56, вып. 5 (май 2016 г.): 440–47.
12. Shirtliff, Mark E., Bastiaan P. Krom, Roelien A. M. Meijering и соавт. «Farnesol-Induced Apoptosis in *Candida Albicans*». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53, вып. 6 (июнь 2009 г.): 2392–2401. <https://doi.org/10.1128/AAC.01551-08>.
13. Sharma, Monika и Rajendra Prasad. «The Quorum-Sensing Molecule Farnesol Is a Modulator of Drug Efflux Mediated by ABC Multidrug Transporters and Synergizes with Drugs in *Candida albicans*». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55, вып. 10 (октябрь 2011 г.): 4834–43.

ОСОБЕННОСТИ ВИДОВОГО СОСТАВА ДРОЖЖЕЙ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Пономарева А.М.^{1,2}, Туаева А.Ю.¹, Наумова Е.С.¹

¹Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Курчатовский комплекс генетических исследований (ГосНИИгенетика), Москва

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», Москва

С древних времён молочные продукты являются частью рациона человека [1]. Наряду с молочнокислыми бактериями основными компонентами микробиоты различных кисломолочных продуктов являются дрожжи, которые в процессе своей жизнедеятельности обогащают их витаминами, органическими кислотами и другими биологически активными веществами. Особую роль в молочной промышленности играют лактозосбраживающие дрожжи, которые образуют спирт и углекислоту, улучшая органолептические свойства готового продукта и подавляя развитие вызывающих порчу микроорганизмов [2]. В последние годы растёт популярность молочных продуктов с пониженным содержанием лактозы, что важно для людей с непереносимостью лактозы. Лактозосбраживающие дрожжи обладают пробиотическими свойствами и могут применяться в качестве компонента закваски молочных продуктов для функционального питания. Кроме того, способность расщеплять лактозу может быть использована для биоконверсии молочной сыворотки, являющейся отходом молочной промышленности [3]. Несмотря на большую роль дрожжей в молочных продуктах, существующие исследования дрожжевой микрофлоры, в основном касались отдельных продуктов, преимущественно произведённых на одной территории.

Целью настоящей работы является молекулярно-генетическое изучение дрожжевой микрофлоры молочных продуктов различных производителей.

Было проведено выделение дрожжей из 74 молочных продуктов, произведённых из различных типов молока (коровьего, козьего, кобыльего, овечьего) в разных регионах России, в Белоруссии, Кыргызстане, Казахстане и Турции. Для выделения дрожжей стерильным инструментом отбирали пробу молочного продукта и помещали в колбу с жидкой YP средой (г/л: глюкоза – 20, дрожжевой экстракт – 10 и пептон – 20), культивировали в течение двух суток при температуре 25°C и затем рассеивали истощающим штрихом на чашки Петри с плотной YPD средой, содержащей антибиотик левомецетин. Для определения родовой и видовой принадлежности дрожжей использовали ПДРФ-анализ ПЦР-амплифицированных 5.8S-ITS-фрагментов и секвенирование домена D1/D2 26S рДНК.

Всего нами было выделено 164 чистые культуры дрожжей, которые молекулярным анализом были отнесены к 12 родам и 22 видам. Преобладающими родами были лактозосбраживающие дрожжи *Kluveromyces* и *Debaryomyces*, а также не сбраживающие лактозу *Saccharomyces*, *Kazachstania*, *Pichia*, *Galactomyces* и *Yarrowia* (табл.).

Таблица. Преобладающие в молочных продуктах виды дрожжей

Вид	Наименование продукта
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Айран, ацидофилин, кефир, кумыс, мацони, ряженка, тан, творог
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Айран сыр
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Айран, кефир
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Айран, кефир, кумыс, сыр, тан
<i>Kazachstania unispora</i>	Кефир, кумыс, тан
<i>Yarrowia lypolitica</i>	Айран, сыр, тан, творог
<i>Pichia fermentans</i>	Айран, кумыс, кефир, тан
<i>Pichia kudriavzevii</i>	Кумыс, тан
<i>Pichia cactophila</i>	Мацони, творог
<i>Pichia deserticola</i>	Кефир, кумыс, творог
<i>Pichia manshurica</i>	Кумыс
<i>Galactomyces geotrichum</i>	Йогурт, ряженка, творог
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Бакай Курут

Штаммы дрожжей и дрожжеподобных грибов удалось выделить из 47 продуктов. Не обнаружены дрожжи были в основном в продуктах, традиционно имеющих бактериальную закваску: простокваша, катык, каймак, варенец и сливочное масло. Среди пяти образцов сметаны дрожжи были выделены из двух. Несмотря на традиционно бактериальную закваску, один образец мацони, произведенный в Тверской области, также содержал дрожжи. На микробиологический состав йогуртовой закваски существенное влияние оказал тип молока – дрожжи удалось выделить только из йогурта, произведенного из цельного козьего молока. Дрожжи присутствовали во всех образцах кумыса, национального напитка из кобыльего молока. Из большинства кисломолочных продуктов (кефир, айран, тан), в состав закваски которых традиционно входят дрожжи, был выделен хотя бы один вид. Из 16 проанализированных типов кефира не удалось выделить дрожжи только из двух образцов. Выделенная микрофлора национальных напитков – тан, айран, кумыс, независимо от производителя, также содержала дрожжевые микроорганизмы.

Сбраживающие лактозу дрожжи рода *Kluyveromyces* были выделены как из национальных напитков (айран, тан, кумыс, мацони), так и из традиционных продуктов (ряженка, сыр, кефир, творог). Лактозосбраживающие дрожжи *Debaryomyces hansenii* встречались значительно реже. Наиболее часто встречались дрожжи *K. marxianus*, которые были выделены из 16 продуктов, тогда как родственный вид *K. lactis* обнаружен только в двух. По-видимому, доминирование *K. marxianus* связано с их физиологическими особенностями (термо- и осмоотолерантность), и, как следствие, с большей приспособленностью к промышленным условиям ферментации (например, пастеризации). Вторым преобладающим видом были дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, обнаруженные в различных национальных напитках, а также в сыре, кефире и твороге (табл.). Во многих образцах встречались осмоотолерантные дрожжи *Kazachstania unispora*. Следует отметить, что этот вид был выделен только из

кисломолочных продуктов с достаточно высоким содержанием углекислого газа: тан, кумыс и кефир. В различных молочных продуктах обнаружено пять видов рода *Pichia*: *P. fermentans*, *P. kudriavzevii*, *P. cactophila*, *P. manshurica* и *P. deserticola*. Преобладающими были дрожжи *P. fermentans*.

Способные расщеплять жиры дрожжи *Yarrowia lypolitica* присутствовали, в основном, в молочных продуктах повышенной жирности: творог, сыр и айран. В отдельных продуктах были обнаружены дрожжеподобные грибы *Galactomyces geotrichum*. Своеобразной оказалась микрофлора напитка Бакай курут (Кыргызстан), в котором были обнаружены базидиомицетные дрожжи *Rhodotorula mucilaginosa*, обычно не встречающиеся в молочных продуктах.

Таким образом, видовой состав дрожжей в значительной степени зависит от молочного продукта, типа молока и конкретного производителя. Доминирующими видами в изученных молочных продуктах являются дрожжи *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kazachstania unispora*, *Debaryomyces hansenii* и *Pichia fermentans*.

Список литературы

1. Curry A. Archaeology: The milk revolution // Nature. 2013. Vol. 500, № 7460. P. 20–22.
2. Скородумова, А.Н. Дрожжи молока и молочных продуктов и их производственное значение / А.Н. Скородумова // М.: Пищевая промышленность. 1969. 117с.
3. Sampaio F.C., de Faria J.T., da Silva M.F., de Souza Oliveira R. P., Converti A. Cheese whey permeate fermentation by *Kluyveromyces lactis*: a combined approach to wastewater treatment and bioethanol production. Environ Technol. 2020. V. 41. P. 3210–3218.

НАРУШЕНИЕ ГЕНОВ LAM, КОДИРУЮЩИХ ТРАНСПОРТЕРЫ СТЕРИНОВ, СНИЖАЕТ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СПОРУЛЯЦИИ У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Северин Ф.Ф., Соколов С.С.

НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова

В условиях голодания по азоту и глюкозе диплоидные клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* вступают в процесс споруляции, в результате которого клетка претерпевает мейоз и формирует специализированные гаплоидные клетки - споры. Данный процесс включает формирования *de novo* двух клеточных структур: особо прочной клеточной стенки споры, которая защищает клетку от внешних воздействий, и плазматической мембраны споры. Споровая мембрана образуется из везикул и по липидному составу больше напоминает мембрану эндоплазматического ретикулума (ЭР), чем плазматическую мембрану клетки [1]. При этом, известно, что ингибирование биосинтеза эргостерина препятствует формированию спор [2]. Это говорит о том, что для нормального формирования спор эргостерин необходим. Эргостерин один из самых гидрофобных клеточных липидов его транспорт между мембранами возможен только с помощью белков переносчиков [3]. Транспорт стеролов происходит в местах контактов мембраны ЭР с другими органеллами, такими как митохондрия, вакуоль, плазматическая мембрана (ПМ). В дрожжах *S. cerevisiae* транспортеры стерина представлены двумя семействами белков Lam и Osh. Белки Osh имеют цитоплазматическую локализацию и способны транспортировать стерин против градиента концентрации, обменивая их на фосфатидилинозитол-4-фосфат. Белки Lam С-концом закорены в ЭР и, по-видимому, обменивают стерин пассивно, по градиенту концентрации. Белки Lam1-Lam4 локализованы в местах контакта ЭР с ПМ, белки Lam5 и Lam6 локализованы в местах контакта ЭР с митохондрией и вакуолью [3]. Скорость транспорта стерина между ЭР и ПМ высока, она более чем в 10 раз превышает расчетную величину скорости пополнения стеринового пула ПМ, необходимого для пролиферации. Однако функция такого избыточного транспорта стерина остается до сих пор неясной, а фенотипы штаммов с делециями генов LAM проявляются только в условиях сильных стрессов [4].

В представленной работе было изучено влияние генов LAM на эффективность спорообразования. Для этого имеющихся в лабораторной коллекции штаммы типа спа-

ривания "MAT a" на основе штамма дикого типа W303 с множественным нарушением генов LAM были трансформированы плазмидой PGAL_HO, содержащей ген эндонуклеазы HO под промотором регулируемым галактозой. В отобранных клонах была продуцирована эндонуклеаза HO, что привело к смене типа спаривания клеток с "MAT a" на "MAT альфа", что было подтверждено контрольным ПЦР на тип спаривания. Затем отобрали клоны, потерявшие плазмиду PGAL_HO. Полученные штаммы "MAT альфа" были скрещены с исходными штаммами "MAT a". Диплоидность полученных штаммов была подтверждена с помощью контрольного ПЦР на тип спаривания. Таким образом была получена коллекция диплоидных штаммов *S. cerevisiae* гомозиготных по нарушению генов транспортеров стерина LAM. Поскольку каждый ген LAM в геноме *S. cerevisiae* представлен парой гомологов, произошедших в результате полногеномной дубликации генома, то для анализа фенотипа множественного нарушения генов LAM мы использовали штаммы с попарными делециями пар гомологов: LAM1/LAM3, LAM2/LAM4, LAM5/LAM6. Были сравнена эффективность споруляции штаммов *S. cerevisiae* дикого типа, $\Delta lam1\Delta lam3$, $\Delta lam2\Delta lam4$, $\Delta lam5\Delta lam6$, $\Delta lam1\Delta lam3\Delta lam2\Delta lam4$, $\Delta lam1\Delta lam3\Delta lam2\Delta lam4\Delta lam5\Delta lam6$. За критерии эффективности споруляции были взяты доля спорующих клеток от общего числа и доля полных асков (содержащих 4 споры, аски с нарушением генов LAM часто содержали от 1 до 3 спор) от общего числа проспорулировавших клеток смотри Таблица 1. Было показано, что нарушение генов LAM1/LAM3 слабо влияет на эффективность спорообразования. Нарушение генов LAM5/LAM6 оказывает умеренный эффект на общее число спорующих клеток и существенно снижает число полных асков. Нарушение генов LAM2/LAM4 оказывает драматический эффект почти полностью предотвращая споруляцию. При этом совместное нарушение генов LAM1/LAM3 и LAM2/LAM4 имеет фенотип более схожий с LAM1/LAM3, что говорит об эпистазе пар генов LAM1/LAM3 и LAM2/LAM4.

Таблица 1. Эффективность споруляции диплоидных клеток штаммов *S. cerevisiae* дикого типа и мутантов по генам LAM.

Диплоидный штамм	Количество асков на 1000 клеток.	Доля полных асков
дикий тип	274	64%
$\Delta lam1\Delta lam3$	281	46%
$\Delta lam2\Delta lam4$	10	0
$\Delta lam5\Delta lam6$	167	8%
$\Delta lam1\Delta lam3\Delta lam2\Delta lam4$	138	0
$\Delta lam1\Delta lam3\Delta lam2\Delta lam4\Delta lam5\Delta lam6$	16	10%

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ №18-14-00151.

Список литературы

1. Neiman AM. Sporulation in the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*. 2011 Nov;189(3):737-65. doi: 10.1534/genetics.111.127126. PMID: 22084423; PMCID: PMC3213374
2. Deng L, Nagasawa J, Ono Y, Ishikawa Y, Kakihara T, Fukuda R, Ohta A. Manipulation of major membrane lipid

- synthesis and its effects on sporulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2008 Sep;72(9):2362-8. doi: 10.1271/bbb.80265. Epub 2008 Sep 7. PMID: 18776695.
3. Sokolov SS, Trushina NI, Severin FF, Knorre DA. Ergosterol Turnover in Yeast: An Interplay between Biosynthesis and Transport. *Biochemistry (Mosc)*. 2019 Apr;84(4):346-357. doi: 10.1134/S0006297919040023. PMID: 31228926.
 4. Sokolov SS, Vorobeva MA, Smirnova AI, et al. (2020) LAM Genes Contribute to Environmental Stress Tolerance but Sensibilize Yeast Cells to Azoles. *Front. Microbiol*. 11:38. doi: 10.3389/fmicb.2020.00038 PMID: 32047490

ИОННЫЕ ЖИДКОСТИ СТИМУЛИРУЮТ РОСТ КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* С НАРУШЕНИЕМ РЕГУЛЯЦИИ ГЛИКОЛИЗА

Соколов С.С., Северин Ф.Ф.

НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова

Ионными жидкостями (ИЖ) традиционно называют органические соли, температура плавления которых ниже температуры кипения воды. В последнее время они стали широко использоваться в промышленности, биотехнологии, экологической безопасной химии, в частности, как экологически относительно безвредные растворители. Низкая температура плавления ИЖ обусловлена наличием нескольких боковых алкильных цепей в катионе ИЖ которые, усложняют кристаллизацию. Мы предположили, что эта же особенность ИЖ может предопределять их способность проникать через биологические мембраны. Гидрофобные части могут снижать степень гидратации заряженной группы, тем самым облегчая переход через мембрану. Ранее мы показали, что такой переход является ключевым электрогенным этапом разобщающего цикла липофильного катиона- разобщителя. Поэтому мы предположили, что ИЖ с липофильными катионами могут быть использованы в качестве нетоксичных разобщителей, то есть веществ способных разобщать дыхание и окислительное фосфорилирование за счет увеличения электрической проницаемости мембран митохондрий. Действие разобщителей дыхания и окислительного фосфорилирования происходит из-за снижения электрического сопротивления мембран митохондрий. Повышенный мембранный потенциал митохондрий может вызывать образование активных форм кислорода. Поэтому небольшое снижение электрического сопротивления внутренних мембран митохондрий может иметь антиоксидантный эффект. Кроме того, такое снижение приводит к диссипации энергии питательных веществ в тепло, что может быть полезно при лечении ожирения, а также как миметик ограничения по калориям.

Недавно мы разработали экспериментальную систему, позволяющую быстро отбирать вещества кандидаты в разобщители. Система основана на стимуляции роста штамма дрожжей *S. cerevisiae* с делецией по гену *TPS1* при росте на глюкозе при добавлении веществ являющихся митохондриальными ядами, в том числе разобщителей [1]. В штамме *Δtps1* нарушен ген кодирующий трегалозо-6-фосфат синтазу, необходимую для регуляции вхождения глюкозы в

гликолиз. Поэтому при добавлении глюкозы клетка тратит весь имеющийся в распоряжении фосфат на фосфорилирование глюкозы. Спасительное действие митохондриальных ядов на *Δtps1* при росте на глюкозе опосредовано тем, что яд снижает потребление фосфата на синтез АТФ митохондрией и, таким образом, стимулирует синтез глицеро-бис-фосфата, таким образом снимая блокировку цепи гликолиза [1]. Ранее мы показали, что небольшое снижение внутриклеточного уровня АТФ в этом штамме стимулирует его рост в присутствии глюкозы [1].

В данной работе мы протестировали линейку ИЖ на основе имидазолия на способность восстанавливать рост *Δtps1* на глюкозе. Целью сравнения было найти вещества восстанавливающих рост *Δtps1* в более широком диапазоне концентраций чем хорошо изученный липофильный катион *C12TPP* (додецилтрифенилфосфоний) который предотвращает набор веса у мышей, содержащихся на диете с повышенным содержанием жиров [2]. Клетки *Δtps1* растущие на *YPEtOH*, содержащей 1% дрожжевого экстракта, 2% пептона, 2% этанола разводили *YPEtOH* до оптической плотности $OD_{550} = [0.05]$, добавляли глюкозу до 0.08%. Суспензию клеток переносили в 96 луночный микробиологический планшет по 100 мкл в лунку. В лунки добавляли аликвоты исследуемых веществ в диапазоне концентраций от 0.03мкМ до 32мкМ в шаге разведения в 2 раза - всего 11 разведений на каждое вещество. Плашки инкубировали при 30С и 500 об/мин 16 часов в планшетном ридере *SpectrostarNano* каждые 5 минут измеряя оптическую плотность суспензии. Каждый опыт был выполнен в пяти биологических повторах. Так были определены диапазоны концентраций веществ восстанавливающие рост *Δtps1* после добавления глюкозы (смотри Таблица 1). Было показано, что длина углеводородного радикала имидазолия меняющая его физико-химические свойства влияет на его способность восстанавливать рост *Δtps1* после добавления глюкозы. Слишком короткие и слишком длинные углеводородного радикалы препятствовала восстановлению роста. Оптимальная длина углеводородного радикала имидазолия составила 10 - 12 углеродов.

Таблица 1. Диапазон концентраций веществ восстанавливающих рост штамма *Δtps1 S. cerevisiae* на среде YPEtOH/D, содержащей 1% дрожжевого экстракта, 2% пептона, 2% этанола и 0.08% глюкозы

Название вещества	Диапазон концентраций восстанавливающий рост <i>Δtps1</i>
C12TPP (додецилтрифенилфосфоний)	0.25 - 1 мкМ
C4Mim-Cl (1-n-бутил-3-метилимидазолий хлорид)	нет
C6Mim-Cl (1-n-гексил-3-метилимидазолий хлорид)	нет
C8Mim-Cl (1-n-октил-3-метилимидазолий хлорид)	нет
C10Mim-Cl (1-n-децил-3-метилимидазолий хлорид)	0.25 - 4 мкМ
C12Mim-Cl (1-n-додецил-3-метилимидазолий хлорид)	0.25 - 4 мкМ
C14Mim-Cl (1-n-тетрадецил-3-метилимидазолий хлорид)	0.25 - 1 мкМ
C16Mim-Cl (1-n-гексадецил-3-метилимидазолий хлорид)	0.25 - 1 мкМ
C4Mim-BF4 (1-n-бутил-3-метилимидазолий тетрафторборат)	нет
C6Mim-BF4 (1-n-гексил-3-метилимидазолий тетрафторборат)	нет
C8Mim-BF4 (1-n-октил-3-метилимидазолий тетрафторборат)	4 мкМ
C10Mim-BF4 (1-n-децил-3-метилимидазолий тетрафторборат)	0.25 - 4 мкМ
C12Mim-BF4 (1-n-додецил-3-метилимидазолий тетрафторборат)	0.25 - 2 мкМ

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 22-24-00533.

Список литературы

1. Sokolov SS, Smirnova EA, Markova OV, et al. Lipophilic Cations Rescue the Growth of Yeast under the Conditions of

Glycolysis Overflow. *Biomolecules*. 2020 Sep 20;10(9):1345. doi: 10.3390/biom10091345.

2. Kalinovich, A., Mattsson, C., Youssef, M. et al. Mitochondria-targeted dodecyltriphenylphosphonium (C12TPP) combats high-fat-diet-induced obesity in mice. *Int J Obes* 40, 1864–1874 (2016). <https://doi.org/10.1038/ijo.2016.146>

СВОЙСТВА ШТАММОВ *RHODOTORULA MUCILAGINOSA*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РС МКС И МЕДИЦИНСКОГО УЧРЕЖДЕНИЯ

Еникеев Р.Р., Захарчук Л.М.

Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва.

В некоторых специальных помещениях – операционных, палатах интенсивной терапии, космических орбитальных станциях лабораториях для отбора проб крови и т.п. количество микроорганизмов в воздухе и на поверхностях оборудования необходимо поддерживать на минимальном уровне. Примерами таких чистых или асептических помещений являются Российский сегмент Международной космической станции (РС МКС) и лабораторные комнаты для отбора проб крови. Обитающие в этих помещениях бактерии и грибы могут нарушать работу систем жизнеобеспечения, а их условно-патогенные виды способны представлять опасность для здоровья людей, так как на рабочих поверхностях выживают обычно мутантные штаммы микроорганизмов, устойчивые к действию УФ-облучения и дезрастворов. РС МКС является экстремальной средой из-за присутствия радиации микрогравитации и повышенного содержания CO₂ (Chęcinska et al., 2019). Микроорганизмы на МКС существуют там с момента создания станции, а кроме того, новые штаммы появляются каждый раз с новым оборудованием и очередной группой космонавтов (Venkateswaran et al., 2014). Показано, что патогенность (ви-

рулентность) микроорганизмов на МКС изменяется как в результате действия на них условий космоса, так и за счет стресс-индуцированного снижения иммунного статуса астронавтов (Mermel, 2013). Изменения свойств микроорганизмов представляют потенциальную угрозу для космических экипажей из-за снижения иммунитета в условиях полета, так и невозможности получения в условиях космоса квалифицированной медицинской помощи. Показано, что большинство микроорганизмов, обнаруженных на борту РС МКС, связаны с человеком, а микробиом РС МКС напоминает микробиом некоторых замкнутых помещений на Земле, например больниц и может содержать условно-патогенные микроорганизмы (Moissl-Eichinger et al., 2016). На Земле одним из самых распространенных видов асептических помещений являются лабораторные комнаты для отбора проб крови. В них микроорганизмы подвергаются постоянному воздействию УФ-излучения и различных дезинфицирующих средств. Микробная контаминация клинических лабораторий основана на постоянном потоке посетителей, обычно имеющих низкий иммунный статус и подвергающихся лечению антибиотиками. В результате

на рабочих поверхностях лабораторных комнат выживают штаммы бактерий и грибов, устойчивые к дезинфицирующим растворам и часто обладающие множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) (Nikaido, 2009).

Информации о характеристиках микроорганизмов, а особенно дрожжей, обитающих в «закрытых помещениях» еще очень мало, поэтому целью настоящей работы было изучение морфологических и физиолого-биохимических свойств дрожжей *Rhodotorula mucilaginosa* SP01, выделенных из РС МКС, и *Rhodotorula mucilaginosa* CL01, полученных из больницы лаборатории, предназначенной для отбора анализов крови.

Пробы с поверхностей приборов РС МКС станции и больницы лаборатории отбирали с помощью ватных тампонов на площади 100 см², а затем доставляли на Землю в специальной упаковке для микробиологического анализа. Отбор проб с поверхностей оборудования лаборатории для отбора анализов крови выполняли аналогично забору проб из РС МКС до начала ее работы после УФ-облучения и утренней антисептической обработки рабочих поверхностей дезрастворами. Идентификацию дрожжей осуществляли путем исследования морфологических, культуральных и физиолого-биохимических признаков, а также применением масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией – MALDI-ToF на приборе MALDI-Tof autoflex III L200 Biotyper (Bruker,

Германия). Оценка чувствительности дрожжей к противогрибковым препаратам осуществляли диско-диффузионным методом с применением агаризованных сред Мюллера-Хинтон и Сабуро. Специфические значения диаметров зон подавления роста, используемые для оценки устойчивости к антимикотикам штаммов дрожжей, определяли в соответствии с клиническими категориями «чувствительный», «умеренно-резистентный» и «резистентный» (<http://www.eucast.org>. EUCAST, v.12.0. 2022). В качестве штаммов для сравнительного анализа использовали *Rhodotorula mucilaginosa* КБП Y-5300 и *Rhodotorula mucilaginosa* ВКМ Y-339 Type, идентифицированных ранее с помощью молекулярных методов.

Таблица 1.

Диаметры зон подавления роста штаммов *R. mucilaginosa*, растущих на средах, Мюллера-Хинтон и Сабуро, разными антимикотиками. Время экспозиции 24 ч, 35°C. КЕТ – кетоконазол; НИС – нистатин; КОТ – клотримазол; АМВ – амфотерицин В; ФКН – флуконазол; ИКН – интраконазол. Чувствительный штамм ≥ 17 ; умеренно-резистентный 15-16 мм; резистентный ≤ 14 мм (<http://www.eucast.org>. EUCAST, v.12.0. 2022).

Штамм	Среда	Антимикотик, D, мм					
		КЕТ	НИС	КОТ	АМВ	ФКН	ИКН
<i>R. mucilaginosa</i> SP01 (РС МКС)	Мюллера-Хинтон	20	27	10	13	0	0
	+2,0 % глюкозы Мюллера-Хинтон	22	25	10	16	0	0
	+0,5 % глюкозы Сабуро	28	21	16	6	0	0
<i>R. mucilaginosa</i> CL01 (больничная лаборатория)	Мюллера_Хинтон	18	30	10	14	0	0
	+2,0 % глюкозы Мюллера_Хинтон	16	23	10	16	0	0
	+0,5 % глюкозы Сабуро	19	22	10	6	0	0
<i>R. mucilaginosa</i> КБП Y-5300	Мюллера-Хинтон	20	26	11	12	0	0
	+2,0 % глюкозы Мюллера-Хинтон	17	22	9	14	0	0
	+0,5 % глюкозы Сабуро	21	17	14	5	0	0
<i>R. mucilaginosa</i> ВКМ Y-339 Type	Мюллера-Хинтон	17	31	10	23	0	0
	+2,0 % глюкозы Сабуро	22	25	14	10	0	0

Изучение морфологических и физиолого-биохимических характеристик выделенных чистых культур дрожжей из РС МКС и больничной лаборатории и показало почти полную идентичность их свойств со штаммами для сравнительного анализа – *R. mucilaginosa* КБП Y-5300 и *R. mucilaginosa* Y-339 Туре. Так все штаммы при исследовании их морфологии имели овальную форму клетки и обладали микрокапсулами. Однако следует отметить, что при общем сходстве морфологических и физиолого-биохимических свойств штаммов из МКС, больничной лаборатории, почвы и типового штамма Y-339 наблюдали и некоторые различия. Так штамм *R. mucilaginosa* SP01 при росте на скошенном агаре Сабуро через 72 часа образовывал вокруг клеток не только микрокапсулы, но и слизистый полисахаридный чехол. На препаратах под микроскопом некоторые группы клеток штамма SP01 были буквально погружены в биомассу этих чехлов. Полисахаридные чехлы штамм *R. mucilaginosa* SP01 синтезирует также при культивировании на жидкой среде Сабуро. Отличаются штаммы *R. mucilaginosa* SP01 и *R. mucilaginosa* CL01 от двух штаммов *R. mucilaginosa* Y-339 Туре и *R. mucilaginosa* КБП Y-5300 еще и способностью расти при +50С. Важно отметить, что кроме признаков, которые необходимы для подтверждения принадлежности космического и больничного штаммов к *R. mucilaginosa*, нами получены данные, которые обычно не используются для характеристики и идентификации этих дрожжей, но свидетельствуют о чрезвычайно широком спектре утилизируемых субстратов штаммами *R. mucilaginosa* SP01 и *R. mucilaginosa* CL01 (молоко, крахмал, яичный желток, картофельная среда, пропионат, цитрат, фенилаланин, тирозин). Это, видимо, объясняет широкое распространение штаммов *R. mucilaginosa* на рабочих поверхностях оборудования как в космосе, так и на Земле, наряду с другими свойствами *R. mucilaginosa* – способностью образовывать биопленки и защищаться от УФ-облучения капсулами, полисахаридными чехлами и наличием в клетках каротиноидов. Ассимиляция остатков различных органических соединений способствует выживанию этих дрожжей на рабочих поверхностях РС МКС и больничной лаборатории. Из полученных нами данных следует, что *R. mucilaginosa* широко представлены в окружающей среде. Однако в публикациях за последние два десятилетия отмечается способность этого вида дрожжей колонизировать эпителий, желудочно-кишечный тракт и дыхательные пути человека и вызывать инфекции, особенно у людей с ослабленным иммунитетом. Это позволило считать *R. mucilaginosa* новым оппортунистическим патогеном. Основным фактором риска заражения *R. mucilaginosa* является длительное использование центральных венозных катетеров (Kim et al., 2013).

На референтной среде Мюллера-Хинтона (МХ) с 2% глюкозы, рекомендованной EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, www.eucast.org. v.12.0.

2022), все штаммы дрожжей проявили очень высокую резистентность к флуконазолу и интраконазолу, а также умеренную резистентность к клотримазолу. На этой же среде МХ с 2% глюкозы все штаммы показали чувствительность к нистатину и кетоконазолу, причем к нистатину чувствительность была максимальной из всех антимикотиков. Что касается амфотерицина В, то на среде МХ с 2% глюкозы у штаммов *R. mucilaginosa* МКС SP01, *R. mucilaginosa* CL01 и *R. mucilaginosa* КБП Y-5300 отмечена умеренная резистентность к амфотерицину В, в то время как типовой штамм *R. mucilaginosa* ВКМ Y-339 Туре чувствителен к этому антибиотику (табл.1). Применение других по составу сред для проверки чувствительности дрожжей к исследуемым антимикотикам показало, что уменьшение количества глюкозы в среде МХ с 2% до 0,5% приводило в некоторых вариантах к небольшому уменьшению границы зон подавления роста дрожжей, как это наблюдается у штаммов CL01 и КБП Y-5300 и при этом границы зоны задержки роста дрожжевого газона были менее четкими и определялись с трудом (табл.1). Таким образом, на поверхности оборудования РС МКС и больничной лаборатории показано наличие потенциально опасных для человека условно-патогенных штаммов *R. mucilaginosa* SP01 и *R. mucilaginosa* CL01 обладающих высокой устойчивостью к флуконазолу и интраконазолу, а также умеренной резистентностью к амфотерицину В и клотримазолу.

Список литературы

1. Chęcinska A., Probst A. J., Vaishampayan P. et al. Microbiomes of the dust particles collected from the International Space Station and Spacecraft Assembly Facilities // Microbiome. 2015. V. 3. N 1. P. 50-68.
2. Venkateswaran K., Vaishampayan P., Cisneros J., Pierson DL., Rogers SO., Perry J. International Space Station environmental microbiome microbial inventories of ISS filter debris. // Appl. Microbiol. Biotechnol., 2014. V. 98. P. 6453–6466.
3. Mermel L. A. Infection prevention and control during prolonged human space travel // Clin Infect Dis. 2013. V. 56. N 1. P. 123–130.
4. Moissl-Eichinger C., Cockell C., Rettberg P. Venturing into new realms? Microorganisms in space // FEMS Microbiol. Rev. 2016. V. 40. N 5. P. 722–737.
5. Nikaido H. Multidrug resistance in bacteria // Annu. Rev. Biochem. 2009. V. 78. P. 119–146.
6. Kim H. A., Hyun M., Ryu S. Y. Catheter-associated *Rhodotorula mucilaginosa* fungemia in an immunocompetent host. // Infect. Chemother. 2013. V. 45. N 3. P. 339–342.

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ
Current Mycology in Russia

Том 9

Выпуск 2.
**Биоразнообразие и экология
грибов**

Глава 4.
**Биоразнообразие и
охрана грибов**
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.04

Глава 5.
Экология грибов
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.05

Volume 9

Issue 2.
Fungal biodiversity and ecology

Chapter 4.
Biodiversity and conservation of fungi
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.04

Глава 5.
Fungal ecology
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.05

Содержание выпуска 2

Глава 4. Биоразнообразие и охрана грибов

РЕВИЗИЯ СПИСКА ВИДОВ МАКРОМИЦЕТОВ КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ Филиппова А. В., Агеев Д. В.	69
ГРИБЫ РОДА CERCOSPORA НА РАСТЕНИЯХ СЕМЕЙСТВА ASTERACEAE В МИКОЛОГИЧЕСКОМ ГЕРБАРИИ ЛАБОРАТОРИИ МИКОЛОГИИ И ФИТОПАТОЛОГИИ ВИЗР (ЛЕР) Гасич Е.Л., Хлопунова Л.Б., Ганнибал Ф.Б.	70
ВИДЫ CERCOSPORA НА СОЕ Гомжина М.М., Гасич Е.Л., Ганнибал Ф.Б.	72
К ИЗУЧЕНИЮ БИОТЫ КАЛИЦИОИДНЫХ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ЛОСИНЫЙ ОСТРОВ» (МОСКОВСКИЙ РЕГИОН) Гудкова Е.П., Благовещенская Е.Ю., Мучник Е.Э.	73
РАЗНООБРАЗИЕ И СУБСТРАТНАЯ ПРИУРОЧЕННОСТЬ ТРУТОВЫХ ГРИБОВ НА ТЕРРИТОРИИ ПЛАТО ГУНИБ (ВНУТРИГОРНЫЙ ДАГЕСТАН) Иванушенко Ю.Ю., Волобуев С.В.	75
СИСТЕМА БАЗ ДАННЫХ ГРИБОВ ВКМ С ОТКРЫТЫМ ДОСТУПОМ Н. Е. Иванушкина, А. Н. Василенко, Г. А. Кочкина, С. М. Озерская	76
РЕДКИЕ ВИДЫ МАКРОМИЦЕТОВ РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ: РАСПРОСТРАНЕНИЕ, СОСТОЯНИЕ ПОПУЛЯЦИЙ, ОХРАНА А.В. Ивойлов	77
НОВЫЕ НАХОДКИ ОХРАНЯЕМЫХ ВИДОВ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ (BASIDIOMYCOTA) В ХАНТЫ-МАНСИЙСКОМ АВТОНОМНОМ ОКРУГЕ – ЮГРЕ Капитонов В.И.	79
КСИЛОТРОФНЫЕ БАЗИДИОМИЦЕТЫ ПРЕДГОРНЫХ ЛЕСОВ АБХАЗИИ: ВИДОВОЙ СОСТАВ И ОСОБЕННОСТИ МИКОБИОТЫ Хачева С. И.	80
ПЕРВЫЕ МИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НА ТЕРРИТОРИИ ООПТ «ЛЯПИНСКИЙ БОР» (Г. ЯРОСЛАВЛЬ) Кондакова, Г.В., Караванова, Д.С., Ометова, Д.Ю.	81
ГРИБЫ ВО ВТОРОМ ИЗДАНИИ КРАСНОЙ КНИГИ ЧЕЧЕНСКОЙ РУСПУБЛИКИ Крапивина Е.А., Тайсумов М.А., Кушалиева Дж. А.	84
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ БИОТЫ МАКРОМИЦЕТОВ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА Крапивина Е.А., Козьминов С.Г.	86
РАЗНООБРАЗИЕ ГРИБОВ РОДА BEAUVERIA НА СЕВЕРО-ЗАПАДЕ И ЮГЕ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ Леднев Г.Р., Левченко М.В., Казарцев И.А.	87
МИКСОМИЦЕТЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ЗАКАЗНИКА «ПРИЛУКСКИЙ» (РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ) Мороз Е. Л., Новожилов Ю. К.	89
РАЗНООБРАЗИЕ ВИДОВ РОДА PUCCINIA НУРАТИНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ЗАПОВЕДНИКА, УЗБЕКИСТАН И.М. Мустафаев	93
НОВЫЕ И МАЛОИЗВЕСТНЫЕ ВИДЫ МИКРОМИЦЕТОВ ЮГО-ВОСТОКА КАЗАХСТАНА Рахимова Е.В., Кызметова Л.А., Асылбек А.М., Сыпабеккызы Г.	94
НАЧАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О ФЕНОЛОГИИ МИКСОМИЦЕТОВ В ОКРЕСТНОСТЯХ КАЗАНИ Садьков Р.Э., Потапов К.О.	95
БИОЛОГИЯ ВИДОВ РОДОВ POSTIA FR. И TYROMYCES P.KARST НА ЮЖНОМ УРАЛЕ Сафонов М.А., Сафонова Т.И.	96
СООБЩЕСТВА МИКСОМИЦЕТОВ ЗАПОВЕДНИКА «НУРГУШ» В ПЕРИОДЫ С АНОМАЛЬНЫМИ ПОГОДНЫМИ УСЛОВИЯМИ Широких А.А.	97
АФИЛЛОФОРОИДНЫЕ ГРИБЫ РЕСПУБЛИКИ ДАГЕСТАН: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ Волобуев С.В.	99
МАКРОМИЦЕТЫ ЛЕСОПАРКА ТЕОДОРА КРОНЕ Г. КАЛИНИНГРАДА Володина А. А.	100

Глава 5. Экология грибов

ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОНСОРЦИУМОВ МИКРООРГАНИЗМОВ И ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ В ВОССТАНОВЛЕНИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ЗЕМЕЛЬ Бухарина И.Л., Исупова А.А., Лямзин В.И., Лебедева М.А.....	102
ГРИБНЫЕ ПАТОГЕНЫ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В ПАМЯТНИКЕ ПРИРОДЫ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ «РОЩА «ДУБКИ» (Г. ТАГАНРОГ) Булгаков Т.С.....	103
ДЕВЯТЬ ЛЕТ УЧЕТОВ МАКРОМИЦЕТОВ ВЕРХОВЫХ БОЛОТ НА ПОСТОЯННЫХ ПЛОЩАДКАХ: СТРУКТУРА СООБЩЕСТВА И БАРКОДИНГ ВЫЯВЛЕННЫХ ТАКСОНОВ Филиппова Н.В., Рудыкина Е.А., Добрынина А.С.	105
ВИДОВОЙ СОСТАВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ ХВОИ И ПОБЕГОВ СОСНЫ В ГОРОДСКИХ ЗЕЛЕННЫХ НАСАЖДЕНИЯХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ Головченко Л.А., Дишук Н.Г., Пантелеев С.В.....	107
ИНТЕГРАЦИЯ ТЕХНОЛОГИЙ БЕЗЛИНЗОВОЙ ГОЛОГРАФИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ АЭРОЗОЛЬНЫХ ЧАСТИЦ И ОПТИЧЕСКОГО, В ТОМ ЧИСЛЕ ЛАЗЕРНОГО АЭРОЗОЛЬНОГО АНАЛИЗА В ПРИЛОЖЕНИИ К АНАЛИЗУ СПОР НА ЧИПЕ И В ПРОЕКЦИОННЫХ АЭРОДИНАМИЧЕСКИХ ШЛИРЕН-ЯЧЕЙКАХ: ИДЕНТИФИКАЦИЯ И МОНИТОРИНГ Градов О.В., Жуланов Ю.В., Макавеев П.Ю., Марнаутов Н.А.	109
РИСК КОНТАМИНАЦИИ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ ТЕРМОФИЛЬНЫМИ ГРИБАМИ Григорян К. М.....	110
МИКОБИОТА ГОРОДСКИХ КОНСТРУКТОЗЕМОВ Иванова А.Е., Сидорова Т.А., Умарова А.Б., Кокорева А.А., Сусленкова М.М., Ежелев З.С., Бутылкина М.А., Лось Е.А., Холопов Ю.В.....	115
ВЛИЯНИЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ МУТАНТНОГО ШТАММА ASPERGILLUS NIGER Н.К. Холмурадова, О.М. Пулатова, Н.Б. Исмаев, Б.Х. Алимova, Т.Ш. Мирзаев, Махсумханов А.А., И.И. Садилов, К.Д. Давранов	117
ЧУЖЕРОДНЫЕ ФИТОПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ В ЕСТЕСТВЕННЫХ И АНТРОПОГЕННО ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ БЕЛАРУСИ Храмцов А.К., Поликсенова В.Д., Лемеза Н.А., Сидорова С.Г., Стадниченко М.А., Федюшко И.А.....	117
НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПЕСТИЦИДАМИ САРДОВИНСКОГО РАЙОНА Хусанов Т.С., Ахмедова З. Р., Яхьяева М.А., Шонахунов Т.Э., Хамраева З.Т., Ибрагимов А.А., Жумаёров Ш.И.	119
МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ ДРЕВЕСНЫХ СУБСТРАТОВ АРКТИКИ (АРХИПЕЛАГ ЗЕМЛЯ ФРАНЦА-ИОСИФА) Кирцидели И.Ю., Панькова И.Г., Ильюшин В.А., Власов Д.Ю., Зеленская М.С., Гаврило М.В.	121
ГРИБЫ И БАКТЕРИИ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ЗАБОЛОННИКОМ ЯРОШЕВСКОГО (SCOLYTUS JAROSCHIEWSKII SCHEVYREW) В ЛОХОВНИКАХ САМУРСКОГО ЛЕСА (РЕСПУБЛИКА ДАГЕСТАН) Колганихина Г.Б., Пантелеев С.В., Петров А.В.....	122
ПОЧВЕННЫЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ КОНСТРУКТОЗЕМОВ В ГОРОДАХ РАЗНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ЗОН Корнейкова М.В., Никитин Д.А., Васильева М.Н., Васенев В.И.....	124
ИЗМЕНЕНИЕ ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ ASPERGILLUS NIGER, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОБРАЗЦОВ ПУСТЫННЫХ ПОЧВ ПОСЛЕ γ -ОБЛУЧЕНИЯ Крючкова, М.О., Иванова, А.Е., Воробьёва, Е.А.....	126
ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОМИЦЕТОВ ФИЛЛОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ РОДА VACCINIUM В ПРОМЫШЛЕННЫХ И ЛЕСНЫХ БИОЦЕНОЗАХ А.А. Кузнецова, Ю.В. Цветкова, А.В. Камченков, О.В. Синкевич.....	127
ФИТОПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ НА ТЕРРИТОРИИ ПАРКА «ПОБЕДА» ГОРОДА МОЛОДЕЧНО Лемеза Н.А., Русакович А.С.....	129
ВЛИЯНИЕ НА РОСТ И НАКОПЛЕНИЕ ФОСФОРА РАСТЕНИЯМИ КЛЮКВЫ КРУПНОПЛОДНОЙ ПРИ СОКУЛЬТИВИРОВАНИИ С	

МИКРОМИЦЕТОМ RHIALOCERHALA FORTINI Михеев В.С., Стручкова И.В.	131
КОРНЕВЫЕ И СТЕЛОВЫЕ ГНИЛИ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО В ЛЕСОПАРКОВЫХ ЗОНАХ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ Мыщыкова А.А., Мелькумов Г.М.	131
СОСТОЯНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ МУЧНИСТОЙ РОСЫ УРБАНОФЛОРЫ ТАШКЕНТА Набиева Д.Б., Иминова М.М., Мустафаев И.М.	133
К ВОПРОСУ ОБ ИНТЕГРИРУЕМОСТИ МЕТОДОВ АЭРОЗОЛЬНОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ И КОМПЛЕМЕНТАРНЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ МОНИТОРИНГА КОНЦЕНТРАЦИИ СПОР РАЗЛИЧНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП ГРИБОВ: ОТ IN SITU МОРФОМЕТРИИ ДО АЭРОЗОЛЬНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ И ЭЛЕМЕНТНОГО МИКРОАНАЛИЗА Орехов Ф.К., Градов О.В., Жуланов Ю.В., Макавеев П.Ю.	135
РОЛЬ МИКРОМИЦЕТОВ В ЭКОЛОГИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ В ПОЛЯРНЫХ РЕГИОНАХ Панин А.Л., Краева Л.А., Власов Д.Ю., Сбойчаков В.Б., Горбунов Г.А., Левандо К.К., Кирицидели И.Ю.	137
АГАРИКОИДНЫЕ МАКРОМИЦЕТЫ В УСЛОВИЯХ ЛЕДНИКОВОГО ЛАНДШАФТА (СРЕДНЯЯ ПОДЗОНА ТАЙГИ, РЕСПУБЛИКА КАРЕЛИЯ) Предтеченская О.О.	139
ФИТОТРОФНАЯ ОБЛИГАТНО-ПАРАЗИТНАЯ МИКОБИОТА ПАРКА КУЛЬТУРЫ И ОТДЫХА ИМЕНИ ЮРИЯ ГАГАРИНА (Г. СИМФЕРОПОЛЬ) Просьянникова И.Б.	141
СВОЙСТВА ШТАММОВ ГРИБА LAETIPORUS SULPHUREUS, ВЫДЕЛЕННЫХ В ЗЕЛЕНых МАССИВАХ ГОРОДА МИНСКА Пучкова Т. А., Максимов А. С.	143
ЭКОЛОГО-ТРОФИЧЕСКИЕ ГРУППЫ КСИЛОТРОФНЫХ ГРИБОВ ОРЕНБУРГСКОЙ ОБЛАСТИ Сафонова Т.И., Сафонов М.А.	144
МИКОКОМПЛЕКС СООБЩЕСТВ СОСНЫ БРУТИЙСКОЙ (PINUS BRUTIA TEN.) В ЮЖНОМ КРЫМУ Саркина И.С., Рыфф Л.Э.	146
ПОСТПИРОГЕННАЯ СУКЦЕССИЯ МИКОБИОТЫ ДУБРАВЫ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЛЕСОСТЕПИ (ЛИПЕЦКАЯ ОБЛАСТЬ, ЗАПОВЕДНИК «ГАЛИЧЬЯ ГОРА») Сарычева Л.А.	147
КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ В ФИТО-ОЧИСТНЫХ СООРУЖЕНИЯХ НИДЕРЛАНДОВ Сайнчук А.Д., Александрова А.В., Харитонов С.Л., Щеголькова Н.М.	149
ЭПИФИТНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И ИХ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ХВОЙНЫХ НА ТЕРРИТОРИИ СРЕДНЕЙ СИБИРИ Сенашова В.А., Сафронова И.Е., Шилкина Е.А., Кочева В.А.	150
ТИПИЧНЫЕ ВИДЫ ПОЧВЕННЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ СВЕКЛОВИЧНЫХ АГРОЦЕНОЗОВ ЦЧР А.А. Шамин, О.И. Стогниенко	152
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДОВ РОДА ASCOSHYTA Lb. ПО ТАКСОНАМ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ И МЕСТООБИТАНИЯМ НА ТЕРРИТОРИИ ЦЧР Ширнина Л.В.	154
БИОГЕОГРАФИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА АДВЕНТИВНОЙ ПАТОГЕННОЙ МИКОБИОТЫ ЕКАТЕРИНБУРГА Ширяев А.Г.	155
ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ШТАММОВ ГРИБОВ ПОГРЕБЕННЫХ И СОВРЕМЕННЫХ ПОЧВЕННЫХ ГО- РИЗОНТОВ НА ПРИМЕРЕ ПОЙМЕННЫХ ПАЛЕОПОЧВ ДНЕПРОВСКОГО КОМПЛЕКСА Сидорова Т.А., Горленко М.В., Иванова А.Е., Кожевин П.А.	156
РЖАВЧИННЫЕ ГРИБЫ КОРМОВЫХ ТРАВ В АРМЕНИИ Согоян Е.Ю., Нанагюлян С.Г.	159
СОСТОЯНИЕ ЛЕСНОЙ МИКОБИОТЫ В ЗОНЕ РАДИАЦИОННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОСТОЧНО-УРАЛЬСКОГО РАДИОАКТИВНОГО СЛЕДА Ставищенко И.В.	161
МЕЛАНИЗИРОВАННЫЕ ГРИБЫ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ПРОТЕКТОРНЫХ ФУНКЦИЙ ПОЧВ Терехова В.А., Волкова В.Д., Рычагова А.Г., Козлова И.А., Сергеева Ю.Д., Федосеева Е.В.	164
СОРБЦИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ МИЦЕЛИЕМ ГИАЛИНОВЫХ	

И МЕЛАНИЗИРОВАННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ	
Волкова В.Д., Сергеева Ю.Д., Терехова В.А.	165
ЭКОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПЛАЗМОДИАЛЬНЫХ МИКСОМИЦЕТОВ (МУХОМУСЕТЕС) НОВОУСМАНСКОГО РАЙОНА ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ	
Токаренко Д.С., Мелькумов Г.М.	165
КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ И КАЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СОДЕРЖАНИЯ ГРИБОВ В СОСТАВЕ ТВЕРДЫХ АТМОСФЕРНЫХ ВЫПАДЕНИЙ НА ТЕРРИТОРИИ Г. МОСКВА И Г. КРАСНОДАР	
Валяев Д.А., Иванова А.Е., Прокофьева Т.В., Гончаров Н.В., Умарова А.Б.	167
МИКОТРОФНОСТЬ РАСТЕНИЙ СЕМ. ERICACEAE БОЛОТНЫХ СОСНЯКОВ	
Жебрак И.С., Созинов О.В., Данилик В.С.	169
РАСШИРЕНИЕ АРЕАЛА РЖАВЧИННОГО ГРИБА GYMNOSPORANGIUM SABINAЕ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ КЛИМАТА	
Жиров И.А., Малеева Ю.В.	171

Глава 4.

Биоразнообразия и охрана грибов

doi: 10.14427/cmr.2022.ix.04

РЕВИЗИЯ СПИСКА ВИДОВ МАКРОМИЦЕТОВ КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Филиппова А. В.¹, Агеев Д. В.²

¹Кемеровский государственный университет, Кемерово; ²ООО «Сигнатек», Новосибирск

Изучение микобиоты Кемеровской области началось около 100 лет назад, однако информация о разнообразии макромицетов крайне фрагментарна, а видовой список и вовсе отсутствует.

В недавно опубликованной статье «Agaricoid and boletoid fungi of Russia» (Bolshakov et al., 2021), которая является результатом многолетней коллективной работы по обобщению информации о микобиоте России, для Кемеровской области указано всего 45 видов агарикоидных и болетоидных макромицетов. Афиллофороидные, кортициоидные и другие группы грибов остались без внимания.

В связи с выше изложенным первостепенной задачей является обобщение информации о видовом разнообразии макромицетов Кемеровской области.

В настоящее время в этом направлении ведется активная работа, которая проводится в двух аспектах: анализ литературных данных и обработка коллекционных сборов.

Первой публикацией по микофлоре Кемеровской области можно считать работу Л. Ф. Ревердатто (1925), где приводятся сведения о грибах Липового острова в Кузнецком Алатау. Далее следуют труды А. Пилата, К. Кавины, В. П. Драверта, В. В. Попова, К. Е. Мурашкинского, М. К. Зилинга, С. Киллерманна, где указываются лишь некоторые точки из Горной Шории и окрестностей Кузнецка (ныне город Новокузнецк), поскольку Кемеровская область, в то время входившая в состав Томской губернии, не являлась целенаправленным объектом исследования, а изучалась в ходе комплексных экспедиций по фитопатологии леса Западной Сибири.

Затем, спустя почти 20 лет, исследования по микофлоре Кемеровской области были продолжены серией работ по Горной Шории и Салаиру, которые проводили Ю. П. Хлонов, М. В. Ноздренко, А. М. Жуков и Е. А. Жуков (Жуков, 2005).

Значительный вклад в изучение микобиоты Кемеровской области внесли Н. В. Перова и О. А. Горбунова (Перова, 1986а, 1986б; Перова, Горбунова, 2001; Gorbunova, 2013), изучавшие макромицетов юга Западной Сибири.

В 2000 году выходит первая Красная книга Кемеровской области, одним из авторов которой является О. В. Тульчинская, которая приводит сведения о 8 видах грибов. В последующих изданиях Красной книги (2012, 2021) добавляются сведения еще о 17 видах.

Данные о видовом разнообразии грибов приводятся и в работах М. А. Бондарцевой и Э. Х. Пармасто (Бондарцева, Пармасто, 1986; Бондарцева, 1998), В. П. Прохорова (2004), которые являются авторами определителей по афиллофоровым грибам и дискомицетам.

В течение текущего десятилетия появилось еще несколько работ (Vlasenko, Vlasenko, 2015; Malysheva, Spirin,

2017; Ребриев, Двадненко, 2017; Горбунова, Ребриев, 2017; Volobuev et al., 2019; Rebriev, 2020; Ребриев и соавт., 2020), где указаны виды, обнаруженные в Кемеровской области.

На настоящий момент проанализировано около 100 литературных источников по макромицетам Кемеровской области. В приложение «Google Таблицы» внесено 1180 записей, принадлежащих 628 видам. Однако стоит отметить, что не все виды подтверждены гербарными образцами, поскольку часть из них утрачена. Поэтому эта информация требует тщательной проверки и уточнения.

Нами ведется активная работа по обработке коллекционного фонда. Подавляющее большинство гербарных сборов макромицетов хранится в Гербарии института биологии, экологии и природных ресурсов Кемеровского государственного университета (КЕМ), в отделе «Фунгариум» (куратор А. В. Филиппова), а также в коллекциях Д. В. Агеева, Т. М. Бульонковой, Ю. А. Ребриева. Часть образцов передана в Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН.

Микологическая коллекция (фунгариум) в Гербарии возникла не сразу. Начало было положено в 1999 году студентами И. С. Коваль и О. П. Поповой, выполнявших исследования по видовому составу грибов музея-заповедника «Томская писаница» под руководством старшего преподавателя кафедры ботаники О. В. Тульчинской. В дальнейшем в пополнении коллекции принимали активное участие Филиппова А. В. (основной коллектор), Филиппов В. И., Павлюченко В. И., Тарасова И. В., Ковригина Л. Н., студенты биологического факультета Кемеровского государственного университета.

Для систематизации и обобщения информации о макромицетах, произрастающих в Сибири, Д. В. Агеевым был создан сайт «Грибы Сибири» (2009–2022), где использованы материалы фунгариума.

Параллельно с обработкой литературных источников, совместно с С. Ю. Большаковым (Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН), ведется работа по составлению базы данных по материалам коллекционных сборов фунгариума. Эти данные так же заносятся в приложение «Google Таблицы». При создании записей используется стандарт Darwin Core. Сейчас в таблицу занесено 1748 записей. Определено 256 видов. В дальнейшем обе таблицы будут объединены и составлен общий список макромицетов Кемеровской области.

В настоящее время база данных по видовому составу макромицетов готовится к публикации.

Список литературы

1. Bolshakov, S. Agaricoid and boletoid fungi of Russia: the modern country-scale checklist of scientific names based on literature data / S. Bolshakov, L. Kalinina, E.

- Palomozhnykh, K. Potapov, D. Ageyev, S. Arslanov, N. Filippova, M. Palamarchuk, D. Tomchin, E. Voronina // *Biological Communications*, 2021, Vol. 66, Agaricoid and boletoid fungi of Russia, No. 4.
2. Ревердатто, Л. Ф. К вопросу о судьбе липового острова в Кузнецком Алатау / Л. Ф. Ревердатто // *Известия Томского государственного университета*. – Т. семьдесят пятый (75), посвященный памяти профессора Василия Васильевича Сапожникова. – Томск, 1925. – С. 277–282.
 3. Жуков, Е. А. Афиллофороидные грибы низкогорных темнохвойных формаций Западной Сибири : Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Е. А. Жуков. – М.: Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства, 2005. – 193 с.
 4. Перова, Н. В. Материалы к флоре гастеромицетов Западной Сибири / Н. В. Перова // *Новости систематики низших растений*. – 1986а. – Т. 23. – С. 150–153.
 5. Перова, Н. В. Шляпочные грибы липовых лесов Горной Шории / Н. В. Перова // *Новое о флоре Сибири*. – 1986б. – С. 45–51.
 6. Перова, Н. В. Макромицеты юга Западной Сибири / Н. В. Перова, И. А. Горбунова. – Новосибирск: Издательство Сибирского отделения Российской Академии Наук, 2001. – 158 с.
 7. Gorbunova, I. A. Rare species of larger fungi in the south of western and central Siberia / I. A. Gorbunova // 3rd International Congress on fungal conservation, Gokova Bay. – Mugla, Turkey, 2013. – P. 38.
 8. Красная книга Кемеровской области. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов. – Кемерово, 2000. – 249 с.
 9. Красная книга Кемеровской области: Т. 1. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов. 2-е изд., перераб. и дополн. / Отв. ред. Куприянов А. Н.; Авторский коллектив. – Кемерово, 2012. – 208 с. – ISBN 5–85119–079–5.
 10. Красная книга Кузбасса. Том I. 3-е издание, переработанное и дополненное. – Кемерово: «Вектор Принт», 2021. – 240 с.
 11. Бондарцева, М. А. Порядок Афиллофоровые. Вып. 1. Семейства гименохетовые, лахнокладиевые, кониофоровые, щелелистниковые : Определитель грибов СССР / М. А. Бондарцева, Э. Х. Пармасто. – Л.: Наука, 1986. – 192 с.
 12. Бондарцева, М. А. Порядок Афиллофоровые. Вып. 2. Семейства альбатрелловые, апорпиевые, болетопсиевые, бондарцевиевые, ганодермовые, кортициевые (виды с порообразным гименофором), лахнокладиевые (виды с трубчатым гименофором), полипоровые (роды с трубчатым гименофором), пориевые, ригидопоровые, феоловые, фистулиновые. : Определитель грибов России / М. А. Бондарцева. – СПб: Наука, 1998. – 391 с.
 13. Прохоров, В. П. Дискомицеты. Вып. 1. Копротрофные виды. Семейства Ascobolaceae (копротрофные виды), Iodophanaceae (копротрофные виды), Ascodesmidaceae, Pezizaceae (копротрофный вид), Rytonemataceae (копротрофные виды), Thelebolaceae (копротрофные виды) : Определитель грибов России / В. П. Прохоров. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2004. – 255 с.
 14. Vlasenko, V.A. Diversity, distribution and ecology of the genus Polyporus south of Western Siberia (north Asia) / V. A. Vlasenko, A. V. Vlasenko // *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, 2015. – Vol. 5, No. 2. – P. 82–91.
 15. Malysheva, V. Taxonomy and phylogeny of the Auriculariales (Agaricomycetes, Basidiomycota) with stereoid basidiocarps / V. Malysheva, V. Spirin // *Fungal Biology*. – 2017. – Т. 121. – № 8. – P. 689–715.
 16. Ребриев, Ю. А. Гастеромицеты рода *Bovista* в России / Ю. А. Ребриев, Д. Ф. Двандненко // *Микология и фитопатология*. – 2017. – Т. 51, № 6. – С. 365–374.
 17. Горбунова, И. А. Редкие виды гастероидных базидиомицетов России / И. А. Горбунова, Ю. А. Ребриев // *Растительный мир Азиатской России*. – 2017. – № 2 (26). – С. 3–9.
 18. Volobuev, S. V. New species for regional mycobiotas of Russia. 4. Report 2019 / S. V. Volobuev, S. Yu. Bolshakov, A. G. Shiryayev, N. A. Sazanova, Yu. A. Rebriev, O. N. Ezhov, V. A. Vlasenko, A. V. Vlasenko, L. B. Kalinina, I. V. Stavishenko, I. V. Zmitrovich // *Микология и фитопатология*, 2019. – Vol. 53, № 5. – P. 261–271.
 19. Ребриев, Ю. А. Распространение *Geastrum melanoscephalum* в азиатской части России / Ю. А. Ребриев, И. Ю. Кром, Н. В. Степанов, В. А. Власенко, А. В. Филиппова // *Turczaninowia*, 2020. – Т. 23, № 3. – С. 112–117.
 20. Грибы Сибири [Электронный ресурс]. – 2009–2022. – URL: <https://m>

ГРИБЫ РОДА *CERCOSPORA* НА РАСТЕНИЯХ СЕМЕЙСТВА *ASTERACEAE* В МИКОЛОГИЧЕСКОМ ГЕРБАРИИ ЛАБОРАТОРИИ МИКОЛОГИИ И ФИТОПАТОЛОГИИ ВИЗР (ЛЕР)

Гасич Е.Л., Хлопунова Л.Б., Ганнибал Ф.Б.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин

В микологическом гербарии лаборатории Микологии и фитопатологии имени А.А. Ячевского (ЛЕР) Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений хранится более 2000 образцов *Cercospora*, относящихся к более 370 видам. Обнаружено 102 образца на растениях семейства *Asteraceae*. Ниже приводится список выявленных в гербарии видов *Cercospora* на растениях этого семейства. Современные названия видов указаны в скобках и приводятся согласно базе данных научных названий микологических таксонов *Index fungorum*.

Cercospora absinthii (Peck) Sacc. – на листьях *Artemisia absinthium*, USA, Missouri, Emma, 01.07.1891, Demetrio C.H., LEP 102707, LEP 102708, LEP 102709, LEP 102710; N. Dak., Dickey County, 24.08.1916, Brenckle J.F., LEP 102711.

C. arctii-ambrosiae Halst. – на листьях *Arctium lappa*, Иркутск, СИФиБР, 11.07.2008, Берестецкий А.О., LEP 130789.

C. brunnea Peck – на листьях *Nabalus altissimus*, USA, Arkansas, Rogers, 23.09.1908, Bartholomew E., LEP 102936.

C. calendulae Sacc. – на листьях *Calendula officinalis*, Italy, Conegliano, Sept. 1876, Spiegassini C., LEP 103105, LEP 103107;

Romania, Bucuresti, 16.07.1949, Savulescu Tr., Bontea V., 1884, LEP 103106.

C. sana Sacc. (= *Cercospora virgaureae* (Thuem.) Allesch.) – на листьях *Erigeron canadensis*, Киев, 02.08.1926, Жижицкая З.К., LEP 103121; 24.08.1926, LEP 103122; Воронежская обл., Борисоглебский р-н, 15.08.1996, Берестецкий А.О., LEP 134740; Ставропольский край, Буденновский р-н, п. Прасковья, 15.07.2013, Гасич Е.Л., LEP 132943; Республика Молдова, Кишинев, 02.09.2005, Берестецкий А.О., LEP 130747; Germany, Wilmersdorf, July 1885, Sydow P., LEP 103123; Italy, Selva, Aug. 1875, Saccardo P.A., LEP 103124, LEP 103125; Mai 1877, LEP 103127; на листьях *Erigeron annuus*, USA, Ohio, Amanda, June 1883, Kellermann W.A., LEP 103126; на листьях *Erigeron* sp., Иркутск, СТАЗР, 11.07.2008, Берестецкий А.О., LEP 130774.

C. virgaureae (Thüm.) Ellis & Everh. (= *Cercospora virgaureae*) – на листьях *Solidago neglecta*, Сухуми, 01.09.1932, собрал Боград, определила Солькина А.Ф., LEP 104268.

C. carlinae Sacc. (= *Passalora carlinae* (Sacc.) U. Braun & Crous) – на листьях *Carlina vulgaris*, Ярославская губерния, Рыбинск, 1902, собрал Дмитриев С.Ф., определил Ячевский А.А., LEP 103157; Вятская губерния, Нолинский уезд, с. Медведки, собрал Фокин А.Д., определил Петров М., LEP 103158; Czech Republic, Mahren, Weisskirchen, 1914, Petrak F., LEP 103159; Helfenstein, 04.09.1914, Petrak F., LEP 103160; Romania, Buzau, Muntii Siriu, 13.08.1972, Negrean G., LEP 103161; Germany, Konigstein, Aug. 1906, Krieger W., LEP 103162; Italy, Nervesa, Aug. 1873, Saccardo P.A., LEP 103163.

C. carthami Sundaram & T.S. Ramakr. – на листьях *Carthamus tinctorius*, Ростов-на-Дону, 1930, Тропова А., LEP 103165; Одесский округ, 28.07.1930, Свирчевская Е.В., LEP 103166; Сухуми, 07.09.1913, Семашко В.К., LEP 103167; India, New Delhi, 11.03.1957, Umrao Snigl, LEP 103168; 23.03.1947, Khan A.H., LEP 103169.

C. cichorii Davis – на листьях *Cichorium intybus*, Лубны, 01.09.1932, собрал Сиденко, определила Гутнер Л.С., LEP 103336, LEP 103337; Киев, 01.09.1930, собрала Салунская, определила Гутнер Л.С., LEP 103338, LEP 103339; Краснодарский край, с/х опытно. ст., 28.06.1931, Хохряков М.К., LEP 103340; с. Отрадо-Кубанское, 29.07.1940, Хохряков М.К., LEP 103341; Пензенская область Лунинский р-н, п. Михайловка, 21.08.2003, Гасич Е.Л., LEP 131522; Самарская область, п. Усть-Кинельский, 26.07.2004, собрали Гасич Е.Л., Хлопунова Л.Б., определила Гасич Е.Л., LEP 132846; 29.07.2004, LEP 132826; Липецкая область, Грязинский р-н, с. Сухоборье, 16.07.2005, Гасич Е.Л., LEP 130646; с. Сенцово, LEP 130656; Приморский край, Ханкайский р-н, с. Камень-Рыболов, берег о. Ханка, около Смерть-скалы, 04.09.2006, собрал Ганнибал Ф.Б., определила Гасич Е.Л., LEP 132151; Республика Северная Осетия – Алания, Пригородный р-н, ферма, 02.08.2012, собрал Ганнибал Ф.Б., определила Гасич Е.Л., LEP 132298; Псковская обл., Великие Луки, оп. поле ВГСХА, 09.08.2013, Ганнибал Ф.Б., LEP 132918; Порховский р-н, д. Павы, 05.08.2013, Ганнибал Ф.Б., LEP 132909; USA, Wisconsin, Madison, 01.11.1912, Davis J.J., LEP 103342.

C. doronici Pass. – на листьях *Doronicum pardalianches*, France, Rhona, Lyon, Sept. 1881, Therry J., LEP 103649; на листьях *D. altaicum*, СССР, Алтай, река Бирюкса, 08.08.1926, собрала Зилинг М.К., определил Мурашкинский К.Е., LEP 103650.

C. ferruginea Fuck. (= *Ragnhildiana ferruginea* (Fuckel) U. Braun, C. Nakash., Videira & Crous) – на листьях *Artemisia vulgaris*, Россия, Курская губ., Белгородский уезд, Чумичева дача, 23.10.1915, собрала Бондарцева В.Н., определила Лебедева Л.А., LEP 109945; Ярославская губ., д. Бердичино, 25.08.1909, Серебряников, LEP 109954; Лифляндская

губ., 14.10.1912, Арефьев Л., LEP 109957; Киевская губерния, 01.07.1924, Борисевич Г., LEP 109940, LEP 109942, LEP 109946; 06.08.1925, LEP 109944; 01.08.1926, LEP 109953; Курская обл., Борисовский р-н, зап-к “Лес на Ворскле”, 05.09.1934, Брежнев И.С., LEP 109961; Санкт-Петербург, 22.09.2003, Гасич Е.Л., LEP 131494; Ленинградская обл., Кировский р-н, сад-во Назия, 10.08.1999, Гасич Е.Л., LEP 133402; Волоsovский р-н, п. Извара, 20.09.2009, Гасич Е.Л., LEP 132728; Ломоносовский р-н, п. Горелово, 22.07.2010, Гасич Е.Л., LEP 131005; 15.09.2011, LEP 131244; 06.08.2012, LEP 132417; Республика Северная Осетия – Алания, Пригородный р-н, ферма, 02.08.2012, собрал Ганнибал Ф.Б., определила Гасич Е.Л., LEP 132301; Псковская обл., Островской р-н, 03.07.2019, Гасич Е.Л., LEP 109786; Латвия, Рига, 06.09.2008, собрала Хлопунова Л.Б., определила Гасич Е.Л., LEP 131588; France, Lothringen, Forbach, 06.10.1912, Ludwig A., LEP 109941; Germany, Berlin, Wilmersdorf, Aug. 1883, Sydow P., LEP 109943; Konigstein, Aug. 1882, Krieger W., LEP 109947; 1876, LEP 109948; 1878, LEP 109949; Sondershausen, 01.06.1903, Vertel G., LEP 109960; Tamsel, 12.09.1903, Vogel P., LEP 109964; Czech Republic, Mahren, Brno, July 1868, Niessl., LEP 109951; Weisskirchen: Czernotin, 30.09.1914, Petrak F., LEP 109955; Prencow, M. Sitno, 22.09.1897, Andr. Kmet., LEP 109963; Italy, Selva (Treviso), Sept. 1875, Saccardo P.A., LEP 109952; Sept. 1874, LEP 109956; LEP 109965; Sept. 1875, LEP 109966; на листьях *Artemisia absinthium*, Курская обл., Борисовский р-н, зап-к “Лес на Ворскле”, 11.08.1934, Брежнев И.С., LEP 109958; Germany, Tamsel, 25.09.1913, Vogel P., LEP 109959; Romania, Iasi, Chiciura, 29.08.1948, Sandu-Ville C., LEP 109962; на листьях *Chrysanthemum serotinum*, Romania, Tulcea, Delta Dunarii, Padurea Letea, 12.10.1979, собрал Negrean C., определил Constantinescu O., LEP 109950.

C. fulvescens Sacc. – на листьях *Solidago virgaurea*, Ленинградская обл., Старый Петергоф, 03.08.1927, LEP 109987; LEP 109988; Italy, Montello, Sept. 1875, Saccardo P.A., LEP 109986;

C. guizotiae Siemaszko – на листьях *Guizotia oleifera*, Сухуми, 16.10.1913, Семашко В.К., LEP 110036.

C. helianthi Ellis et Everh. (= *Passalora helianthi* (Ellis & Everh.) U. Braun & Crous) – на листьях *Helianthus hirsutus*, USA, Ohio, Sandusky, Erie County, 02.08.1903, Kellerman W.A., LEP 110044; LEP 110045.

C. lactucae Henn. (= *Passalora lactucae* (Henn.) U. Braun & Crous) – на листьях *Lactuca raddeana*, Japan, Ushineyama, 01.08.1901, Yoshinaga T., LEP 110096.

Cercospora lactucae-sativae Sawada – на листьях *Lactuca serriola*, Республика Молдова, Кишинев, 02.09.2005, Берестецкий А.О., LEP 130729.

C. megalopotamica Sp. (= *Pseudocercospora megalopotamica* (Sp.) U. Braun) – на листьях *Bidens cernua*, USA, Wisconsin, Price County, 09.09.1911, Davis J.J., LEP 110214.

C. tageticola Ellis & Everh. – на листьях *Tagetes patula*, India, Pusa, Bihar, 09.12.1933, Singh U.B., LEP 104178.

C. tridacis-procumbentis Thirum. & Govindu – на листьях *Tridax procumbens*, India, New Delhi, 17.09.1949, Lal G., LEP 104199.

C. umbrata Ellis & Holw. (= *Passalora umbrata* (Ellis & Holw.) U. Braun) – на листьях *Bidens frondosa*, USA, Kansas, Stockton, 21.08.1896, Bartholomew E., LEP 104202; на листьях *B. connata*, USA, Kansas, Rockport, 21.09.1896, Bartholomew E., LEP 104203.

C. vernoniae Ellis & Kellerm. – на листьях *Vernonia baldwinii*, USA, Kansas, Stockton, 18.09.1901, Bartholomew E., LEP 104211; Manhattan, 30.07.1883, Kellermann W.A., LEP 104212.

C. zinnia Ellis & G. Martin – на листьях *Zinnia multiflora*, USA, Florida, Green Cove Springs, Dec.1884, Martin G., LEP 104376.

В гербарии LEP на растениях семейства Asteraceae выявлено 22 вида *Cercospora*, некоторые виды в настоящее время помещены в роды *Passalora*, *Cercosporiella*, *Pseudocercospora*, *Ragnhildiana*, 10 видов обнаружены на территории России и СССР. Грибы зарегистрированы на 25 видах растений из 19

родов. Наибольшей частотой встречаемости характеризовались возбудители церкоспорозов полыни обыкновенной, мелколестника канадского и цикория обыкновенного. Большинство остальных видов представлено единичными находками.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 19-76-30005.

ВИДЫ *CERCOSPORA* НА СОЕ

Гомжина М.М., Гасич Е.Л., Ганнибал Ф.Б.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин

Род *Cercospora* является одним из крупнейших родов аскомицетов. Большая часть его видов является фитопатогенами, вызывающими листовые пятнистости многих сельскохозяйственных растений. Одними из самых вредоносных заболеваний сои являются церкоспорозы, которые могут проявляться как на листьях, так и на семенах. Церкоспорозную пятнистость листьев сои вызывает *Cercospora sojina*, а пурпурный церкоспороз листьев и семян – *C. kikuchii*. Длительное время считалось, что церкоспорозы сои вызывают только эти два вида грибов. Благодаря обширным данным о молекулярной филогении грибов этого рода, полученным за последние десять лет, взгляд на концепцию рода существенно изменился. Одним из главных заключений является констатация того факта, что идентификацию изолятов следует осуществлять в результате мультилокусного секвенирования, так как морфологические признаки скудны, неинформативны, а специализация по питающему растению не является строгой.

В коллекции чистых культур Лаборатории микологии и фитопатологии Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений (ФГБНУ ВИЗР) хранятся 18 изолятов *Cercospora*, выделенных из листьев и семян сои с симптомами церкоспороза и пурпурного церкоспороза, собранные в Амурской области, Приморском крае, Крыму и Южной Америке. Предварительно по симптомам и в условиях чистой культуры была проведена их идентификация. Все изоляты, выделенные из листьев и семян с симптомами церкоспороза, были определены как *C. sojina*, все изоляты, полученные из пурпурно окрашенных семян – как *C. kikuchii*. Два изолята были идентифицированы до рода. Целью настоящей работы было корректно идентифицировать все изоляты *Cercospora* по молекулярно-генетическим признакам с помощью мультилокусного филогенетического анализа.

Известно, что для реконструкции молекулярной филогении видов *Cercospora* информативной является комбинация из пяти локусов ДНК: область внутреннего транскрибируемого спейсера ДНК и участки генов, ответственных за синтез актина, кальмодулина, фактора элонгации трансляции 1-а и гистона 3. Были определены нуклеотидные последовательности всех этих пяти локусов. Филогенетические деревья были построены согласно трём алгоритмам: метод максимального правдоподобия, принцип максимальной экономии и анализ последовательностей методом Байесовской статистики.

Изначально было построено комбинированное филогенетическое дерево, включающее все виды (115) *Cercospora*, для которых есть молекулярно-генетические данные, что-

бы найти место изученным изолятам в роде *Cercospora* в рамках филогенетического контекста. Затем была построена другая комбинированная филограмма, включающая только виды и штаммы из клад, в состав которых вошли исследованные изоляты.

Десять изолятов формировали на всех филограммах кладу, включающую типовой (*ex-type*, CBS 132615) и шесть репрезентативных штаммов *C. sojina*. Два изолята вошли в состав клады, сформированной типовым (CBS128.27) и восемью репрезентативными штаммами *C. kikuchii*. Один изолят составил единую кладу со штаммами *C. cf. sigesbeckiae*, а другой – со штаммами клады *Cercospora sp. Q* (по Groenewald et al 2013). Три изолята формировали на филограммах отдельную монофилетическую кладу, не включающую в свой состав типовых и репрезентативных штаммов *Cercospora*, близкородственную штаммам *C. alchemillicola* (CPC 5259) и *C. cf. alchemillicola* (CPC 5126). Один изолят на филогенетическом дереве также занял неопределённую позицию, близкую штаммам *C. althaeina* и *C. cylindracea*.

Идентификация изолятов по симптомам на сое и по морфологическим признакам согласовывалась с результатами филогенетического анализа для всех десяти изолятов *C. sojina*. Все они были выделены из листьев и семян сои с симптомами церкоспороза, собранных в разных районах Амурской области и в Приморском крае.

Ситуация с изолятами, выделенными из семян сои с симптомами пурпурного церкоспороза и предварительно идентифицированными как *C. kikuchii* оказалась сложнее. Достоверно лишь два изолята были отнесены к этому виду, оба они были выделены из сои, выращенной в Южной Америке. Два изолята из Амурской области и Южной Америки были идентифицированы как представители видов *C. cf. sigesbeckiae* и *Cercospora sp. Q* соответственно. Полученные результаты согласуются с предположением о том, что не только гриб *C. kikuchii* способен вызывать пурпурный церкоспороз сои. По результатам идентификации мировой коллекции изолятов *Cercospora* с применением мультилокусного филогенетического анализа было установлено, что в Аргентине и в Бразилии основным возбудителем пурпурного церкоспороза листьев и семян сои является *C. kikuchii* (Soares et al 2015), в то время как в США и Иране – *Cercospora cf. flagellaris* (Bakhshi et al 2015, Soares et al 2015, Albu et al 2016). Кроме того, известны единичные находки *Cercospora cf. sigesbeckiae*, выделенные из сои, выращенной в Японии (Groenewald et al 2013), Аргентине (Soares et al 2015) и США (Albu et al 2016). Также в Бразилии из листьев сои было выявлено несколько изолятов, близкород-

ственных штаммам *Cercospora* sp. Q и *C. alchemillicola* и *C. cf. alchemillicola* (Soares et al 2015).

Таким образом, полученные нами результаты еще раз подтверждают, что пурпурный церкоспороз сои может быть вызван несколькими видами *Cercospora*. Очевидно, список видов *Cercospora* ассоциированных с этим заболеванием, будет дополнен и новыми для науки видами. В качестве кандидатов можно назвать обнаруженные в исследованной коллекции один изолят из Крыма и три из Амурской области, которые формировали две отдельные монофилетичные клады.

Интересным является тот факт, что вопреки ожиданиям среди изученной коллекции ни один изолят из России по молекулярно-генетическим признакам не был идентифицирован как *C. kikuchii*. *Cercospora* cf. *sigesbeckiae* был впервые обнаружен на территории России.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 19-76-30005).

Список литературы

1. Groenewald JZ, Nakashima C, Nishikawa J, Shin HD, Park JH, Jama AN et al. 2013. Species concepts in *Cercospora*: spotting the weeds among the roses. *Studies in Mycology* 75(1):115-70. doi.org/10.3114/sim0012
2. Soares APG, Guillin EA, Borges LL, Silva ACTd, Almeida ÁMRd, Grijalba PE, et al. 2015. More *Cercospora* species infect soybeans across the Americas than meets the eye. *PLoS ONE* 10(8): e0133495. doi.org/10.1371/journal.pone.0133495
3. Bakhshi M, Arzanlou M, Babai-ahari A, Groenewald JZ, Braun U, Crous PW. 2015. Application of the consolidated species concept to *Cercospora* spp. from Iran. *Persoonia* 34: 65–86. http://dx.doi.org/10.3767/003158515X685698
4. Albu S, Schneider RW, Price PP, Doyle VP. 2016. *Cercospora* cf. *flagellaris* and *Cercospora* cf. *sigesbeckiae* are associated with *Cercospora* leaf blight and purple seed stain on soybean in North America. *Phytopathology* 106(11): 1376-1385. doi.org/10.1094/PHYTO-12-15-0332-R

К ИЗУЧЕНИЮ БИОТЫ КАЛИЦИОИДНЫХ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ЛОСИНЫЙ ОСТРОВ» (МОСКОВСКИЙ РЕГИОН)

Гудкова Е.П.¹, Благовещенская Е.Ю.¹, Мучник Е.Э.²
¹Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова,
²Институт лесоведения Российской академии наук

Калициоидные – это группа лихенизированных и нелихенизированных грибов, имеющих плодовые тела в виде миниатюрных апотециев на тонкой ножке (обычно 1-3 мм выс.) и/или формирующих так называемый «мазедий», сухой порошкообразной массы спор и парафиз, образующихся путем разрушения оболочек прототуникатных сумок и других гимениальных структур. Ранее эти грибы объединялись в порядок *Caliciales*, но позднее было показано, что эта группа чрезвычайно разнородна в таксономическом плане, и на настоящий момент ее представители находят себя в четырех разных классах подотдела *Pezizomycotina* отдела *Ascomycota* [1, 2, 3]. Большинство калициоидных грибов и лишайников характерны для лесных сообществ с достаточной экологической непрерывностью, способствующей формированию стабильного микроклимата, вследствие чего рассматриваются как индикаторы старовозрастных и малонарушенных лесных сообществ [1, 3]. Данная работа посвящена обобщению имеющейся информации о биоте калициоидных грибов Национального парка «Лосиный остров», на основе как литературных данных, так и результатов собственных исследований.

Национальный парк «Лосиный остров» имеет площадь около 13 тыс. га, меньшая часть его территории располагается в пределах г. Москвы, большая лежит за его пределами, до населенных пунктов Мытищи, Королев, Щелково и Балашиха. Таким образом, лесной массив национального парка со всех сторон окружен плотно заселенными урбанизированными территориями, что обеспечивает высокий уровень антропогенной нагрузки. При этом «Лосиный остров» отличается большим разнообразием природных условий: он находится на стыке трех лесорастительных районов – елово-широколиственных лесов Клинско-Дмитровской гряды, сосновых заболоченных лесов Мещерской низменности и широколиственных с елью лесов Московско-Окской равнины, а также на его территории распо-

лагается водно-болотный комплекс р. Яузы и ее притоков [4].

Всего для национального парка отмечено восемь видов калициоидных грибов (табл. 1).

Muscocalicium subtile и *Phaeocalicium polyporaеum* – представители микокалициевых, занимающих пограничное положение между лишайниками и свободноживущими грибами [1]. Именно эти виды, на наш взгляд, нельзя рассматривать в качестве индикаторов малонарушенных лесов: *M. subtile* встречается не только в лесных сообществах разного типа (включая заболоченные), но и в селитебных местообитаниях, требуя лишь вертикально или слегка наклонно расположенной сухой древесины (в том числе и обработанной, например, деревянные столбы) [1]; *Ph. polyporaеum* обитает в лесах различного возраста и происхождения (в том числе, лесопосадках) при наличии в них соответствующего субстрата (базидиомы второго года трутовых грибов рода *Trametes* на березовом валеже) в более или менее увлажненных условиях [10].

Представители рода *Chaenotheca* были отмечены нами многочисленно, в особенности большим распространением обладают виды *Ch. ferruginea* и *Ch. furfuracea*, встречающиеся на территории как особо охраняемой, так и рекреационной зон всех исследованных лесопарков. Из пяти образцов *Ch. ferruginea* четыре были собраны с ели и один с сосны, что подтверждает большую приуроченность вида к хвойным породам, однако в прошлых сообщениях также отмечаются находки этого вида на коре липы. Возможно, что более частые находки именно этого вида объясняются тем, что он устойчив к довольно высоким уровням загрязнения [11]. Все образцы *Ch. furfuracea* были обнаружены на тонких корнях и почве выворотней – вырванных с корнем деревьев, где формируются достаточно затененные и влажные условия для произрастания вида.

Таблица 1. Калициоидные грибы НП «Лосиный остров» (кв. – квартал; * – по нашим данным)

№	Вид гриба	Распространение в НП «Лосиный Остров»
Класс Lecanoromycetes		
Порядок Caliciales		
Семейство Caliciaceae		
1	<i>Calicium abietinum</i> Pers.	Лосиноостровский лесопарк [5, 6]
Класс Eurotiomycetes		
Порядок Mycoliciales		
Семейство Mycolicaceae		
2	<i>Mycocalicium subtile</i> (Pers.) Szatala	Лосинопогонный лесопарк (35 кв.) [6]
3	<i>Phaeocalicium polyporaeum</i> (Nyl.) Tibell.	Лосинопогонный лесопарк (45 кв.) [7]
Класс Coniocybomycetes		
Порядок Coniocybales		
Семейство Coniocybaceae		
4	<i>Chaenotheca ferruginea</i> (Turner ex Sm.) Mig.	Алексеевский лесопарк (2 и 9 кв. [*]; 35 кв. [5, 6]), Лосиноостровский лесопарк [5, 6]; Лосинопогонный лесопарк (34 кв. [*]), Мытищинский лесопарк (24 и 26 кв. [*])
5	<i>Ch. furfuracea</i> (L.) Tibell	Алексеевский лесопарк (2 кв. [*]), Лосиноостровский лесопарк [8, 9], Лосинопогонный лесопарк (19 и 34 кварталы [*]), Мытищинский лесопарк (24 кв. [*]), Яузский лесопарк [8, 9]
6	<i>Ch. hispidula</i> (Ach.) Zahlbr.	Алексеевский лесопарк (2 кв. [*]; 35 кв. [9]), Лосиноостровский лесопарк [*]
7	<i>Ch. stemonea</i> (Ach.) Müll. Arg.	Алексеевский лесопарк (35 кв. [*]), Лосиноостровский лесопарк [*], Лосинопогонный лесопарк (34 кв. [*]), Яузский лесопарк (40 кв. [6])
8	<i>Ch. trichialis</i> (Ach.) Hellb.	Алексеевский лесопарк (35 и 45 кв. [8]), граница Алексеевского и Щелковского лесопарка (между 2 и 18 кв) [*], Лосиноостровский лесопарк [8], Мытищинский лесопарк (24 и 26 кв. [*]), Яузский лесопарк [8]

Интересными находками следует считать новые местобитания *Ch. hispidula* и *Ch. stemonea* – виды-индикаторы старовозрастных лесных и парковых сообществ Северо-Запада европейской части России и/или биологически ценных лесных ландшафтов в подзоне хвойно-широколиственных лесов Центральной России [11]. *Ch. stemonea* отмечена на коре ели в 34 квартале Лосинопогонного лесопарка (N 55.845571 E 37.822026). Обе находки *Ch. hispidula* принадлежат 2-му кварталу Алексеевского лесопарка, относительно светлой часто затопляемой местности. Вид был встречен на коре липы и остолопе березы, при этом на остолопе лишайник очень сильно зарос *Lepraria elobata* Tønsberg, таллом лепрарии покрывал даже апотеции *Ch. hispidula*. Находки прошлых лет этого вида отмечают его также на коре дуба в Лосиноостровском лесопарке, то есть в пределах черты города [8].

Chaenotheca trichialis, возможно, обитает на самом широком спектре субстратов среди всех представленных видов – нами было отмечено произрастание вида даже на хитиновом экзоскелете мертвого насекомого. Также на настоящий момент вид в пределах НП был зафиксирован на коре ели, дуба, березы и липы.

В целом, биота калициоидных грибов и лишайников НП «Лосиный Остров» довольно богата для территории с высоким уровнем антропогенной нагрузки. Произрастание даже в пределах городской части видов-индикаторов сравнительно малонарушенных лесов – свидетельство того, что лесной массив пока еще обладает определенной «буферной

емкостью», в достаточной мере сохраняя «непрерывность» экологических условий и стабильность микроклимата.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания Института лесоведения РАН ААА-А-А19-119053090074-7 «Структура, динамика и производительность естественных и искусственных лесных сообществ в Центре Русской равнины» и темы государственного задания МГУ №121032300081-7.

Список литературы

1. Титов А.Н. Микокалициевые грибы (порядок Mycoliciales) Голарктики. М.: КМК, 2006. 296 с.
2. Prieto M., Wedin M. Phylogeny, taxonomy and diversification events in the Caliciaceae // Fungal Divers., 2016. 82: 221-238.
3. Tibell L. Calicioid lichens and fungi. Nordic Lichen Flora. Vol. 1. Bohuslan 5', Uddevalla, 1999. P. 20-94.
4. Коротков С.А., Глазунов Ю.Б., Барсуков Л.Е. Историческая динамика и тенденции формирования лесов национального парка «Лосиный Остров» // Лесной вестник / Forestry Bulletin, 2021. Т. 25. № 3. С. 5–13. DOI: 10.18698/2542-1468-2021-3-5-13
5. Пчелкин А.В. Лишайники национального парка «Лосиный остров». 2003. Режим доступа: <http://www.lichenhouse.narod.ru/10/INDEX.HTM> (дата обращения: 28.08.2022).
6. Летопись Природы национального парка «Лосиный остров». Книга 2, 2012 год. М., 2013. 105 с.

7. Мучник Е.Э. К изучению разнообразия лишенобиоты национального парка «Лосиный остров» // Научные основы устойчивого управления лесами: Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 30-летию ЦЭПЛ РАН. М.: ЦЭПЛРАН, 2022. С. 75–77.
8. Kormshchikov R.S., Muchnik E.E. On the issue of studying the species composition of the lichens in the Losiny Ostrov National Park // GREEN-2020. Студенческие исследования в области экологии, инженерии и природы = GREEN-2020. Graduate Research in Ecology, Engineering and Nature: сборник научных трудов молодежной научно-практической конференции с международным участием. Москва, 14–15 декабря 2020 г. Ч.1. Москва: РУДН, 2020. С. 34–38.
9. Пчелкин А.В. Распространение лишайников на городской части национального парка «Лосиный остров» // Современная микология в России. Материалы 4-го Международного Микологического Форума. М.: Национальная академия микологии, 2020. Т. 8. Вып. 3. С. 175–176.
10. Мучник Е.Э., Благовещенская Е.Ю., Волоснова Л.Ф. К распространению *Phaeocalicium polyporaeum* (Muscocaliciaceae, Ascomycota) в европейской части России // Микология и фитопатология, 2018. Т. 52, Вып. 2. С. 150–152.
11. Coppins, Brian. Nordic Lichen Flora. Volume 1. Introductory parts, Calicioid lichens and fungi. Bohuslän '5, Uddevalla: Nordic Lichen Society. P.3–20.
12. Мучник Е.Э. Лишайники как индикаторы состояния лесных экосистем центра Европейской России // Лесотехнический журнал, 2015. Т. 5, №3(19). С. 65–76. DOI: 10.12737/14154

РАЗНООБРАЗИЕ И СУБСТРАТНАЯ ПРИУРОЧЕННОСТЬ ТРУТОВЫХ ГРИБОВ НА ТЕРРИТОРИИ ПЛАТО ГУНИБ (ВНУТРИГОРНЫЙ ДАГЕСТАН)

¹Иванушенко Ю.Ю., ²Волобуйев С.В.

¹Дагестанский государственный университет, Махачкала

²Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

Трутовые грибы являются неотъемлемой частью лесных экосистем, но на сегодняшний день для многих горных территорий отсутствует информация о разнообразии и экологии этой группы базидиомицетов. В связи с этим целью наших исследований является выявление видового состава и характеристика субстратных предпочтений трутовых грибов (Agaricomycetes, Basidiomycota) на территории плато Гуниб (Внутригорный Дагестан).

Материалом для данного исследования послужили образцы грибов, собранные по общепринятым методикам (Lodge et al., 2004; Ивойлов и др., 2017) в 2018–2021 гг. на территории плато Гуниб (Гунибский район, Дагестан). Идентификация грибов проводилась преимущественно методами световой микроскопии на основе современных определителей (Ryvarden, Melo, 2017; Bernicchia, Gorjón, 2020). Образцы депонированы в Микологический гербарий Ботанического института им. Комарова РАН (LE).

Плато Гуниб занимает северо-западную часть Внутригорного Дагестана и представляет собой усеченный конус с площадью около 15 км². Климат плато континентальный, влажность составляет 65% (Urbanavichus, Ismailov, 2013). Во флоре сосудистых растений плато Гуниб насчитывается 657 видов. Общий растительный покров плато состоит из лесных, луговых, горно-степных и горно-ксерофитных сообществ со значительным участием петрофитов (Омарова, 2013). На северном склоне плато развиты старовозрастные сосновые леса (*Pinus kochiana*), а также березовые

леса (*Betula litwinowii*, *B. pendula* и *B. raddeana*) с примесью *Salix caprea*, *Populus tremula*, *Carpinus betulus*, *Acer campestre*, *Sorbus torminalis*, *Tilia cordata* и других (Volobuev, Ivanushenko, 2020). Подлесок представлен *Juniperus oblonga*, *Rosa spp.* и *Euonymus verrucosus*. Южный склон хорошо инсолирован и практически лишен подходящего субстрата для развития объектов нашего исследования. Склоны пересекает мелководная река Гунибка, в бассейне которой произрастает *Alnus incana*.

В результате проведенных исследований нами выявлено 73 вида пороидных грибов, относящихся к 43 родам и 7 порядкам класса *Agaricomycetes* (Basidiomycota) (Volobuev et al., 2021). Среди них 29 видов оказались новыми для Республики Дагестан, в том числе 11 видов были впервые указаны для Кавказа (*Antrodia minuta*, *Antrodiella ichnusana*, *Cartilosoma ramentaceum*, *Ceriporia torpida*, *Kneiffiella abdita*, *Postia alni*, *P. lateritia*, *P. leucomallella*, *P. yanae*, *Sistotrema alboluteum* и *S. muscicola*).

Наибольшее видовое богатство отмечено для порядка *Polyporales* (46 видов), вторым по числу видов является *Hymenochaetales* (17 видов); выявлено четыре вида из порядка *Gloeophyllales*, по два вида – из *Cantharellales* и *Trechisporales* и по одному виду – из *Agaricales* и *Russulales*.

Большинство видов грибов было обнаружено на древесине *Betula spp.* (34 вида) и *Pinus kochiana* (26 видов). На древесине *Salix caprea* нами отмечено 7 видов, на *Populus tremula* и *Alnus incana* – по 5 видов, на *Carpinus betulus* – 4

вида, на *Juniperus oblonga* – 2 вида, на *Euonymus verrucosus* – 1 вид.

Ipex lacteus, отмеченный на шести видах деревьев из родов *Alnus*, *Betula*, *Carpinus*, *Juniperus*, *Pinus*, *Populus*, имел самый разнообразный субстратный спектр, проявляя тем самым высокий адаптивный потенциал.

Подавляющее большинство выявленных видов (65 видов, 89%) являются ксилосапротрофами, развивающимися на мертвой древесине упавших стволов и ветвей. С живыми деревьями ассоциировано 11 видов (8%) ксилотрофных грибов, в том числе 3 вида, проявляющих факультативную фитопатогенную активность (*Fomes fomentarius*, *Fomitopsis betulina*, *Phellinopsis conchata*).

Выявленное видовое богатство трутовых грибов расширило современные представления о микобиоте плато Гуниб и ее связях с растительными сообществами.

Обладая богатым комплексом лигноцеллюлозолитических ферментов, трутовые грибы обеспечивают устойчивость круговорота биогенных элементов в лесных экосистемах и в то же время являются чувствительным индикатором антропогенных изменений природной среды. Дальнейшие исследования трутовых грибов плато Гуниб должны быть направлены на оценку их индикаторного и природоохранного значения.

Список литературы

- Lodge D.J., Ammirati J.F., O'Dell T.E., Mueller G.M., Huhndorf S.M. et al. Terrestrial and lignicolous macrofungi.

In: Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods. London; N.Y.; San Diego: Elsevier Academic Press. 2004. P. 127-172.

- Ивойлов А.В., Большаков С.Ю., Силаева Т.Б. Изучение видового разнообразия макромицетов: учебное пособие. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2017. 160 с.
- Ryvarden L., Melo I. Poroid fungi of Europe, 2nd edition. *Synopsis Fungorum* 37. 2017. P. 1-431.
- Bernicchia A., Gorjón S.P. Polypores of the Mediterranean Region. Romar, Segrate, 2020.
- Urbanavichus G., Ismailov A. The lichen flora of Gunib plateau, inner-mountain Dagestan (North-East Caucasus, Russia) // *Turkish Journal of Botany*. 2013. № 37. P. 753-768. DOI: 10.3906/bot-1205-4
- Омарова С.О. Флора локальных платообразных поднятий Внутригорного Дагестана. Махачкала: Издательство ДаГУ, 2013, 130 с.
- Volobuev S.V., Ivanushenko Yu.Yu. Aphyllorhizoid fungi (Basidiomycota) on juniper on the Gunib Plateau, innermountain Dagestan // *Czech Mycology*. 2020. V. 72. Iss. 1. P. 83-93. DOI: 10.33585/cmy.72106
- Volobuev S.V., Ivanushenko Yu.Yu., Ismailov A.B. Diversity and ecology of poroid fungi (Agaricomycetes, Basidiomycota) of the Gunib Plateau, Dagestan // *Юг России: экология, развитие*. 2021. Т. 16, № 3. С. 68-80. DOI: 10.18470/1992-1098-2021-3-68-80

СИСТЕМА БАЗ ДАННЫХ ГРИБОВ ВКМ С ОТКРЫТЫМ ДОСТУПОМ

Н. Е. Иванушкина, А. Н. Василенко, Г. А. Кочкина, С. М. Озерская

Всероссийская коллекция микроорганизмов, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пушchino

Отдел “Всероссийская коллекция микроорганизмов”, организационно являясь научным подразделением ИБФМ РАН, обладает статусом коллекции национального значения, выполняя целый ряд функций: обеспечивает потребности научного сообщества в культурах микроорганизмов; выполняет международные обязательства России как депозитарий штаммов микроорганизмов в связи с международной патентной процедурой; функционирует как коллекция типовых культур новых видов в связи с Конвенцией о биологическом разнообразии, ратифицированной Россией в 1995 году; осуществляет информационное сопровождение, обеспечивающее доступ к сохраняемым биологическим ресурсам.

Информационная система, разработанная в ВКМ, состоит из связанных между собой баз данных, объемы информации в которых постоянно меняются [1, 2, 3, 4]. Большинство из них доступны на сайте ВКМ (www.vkm.ru), который работает онлайн на русском и английском языках. Формат предоставляемой информации разработан с учетом международных стандартов, используемых крупнейшими коллекциями мира, и поддерживаемыми международными организациями коллекций культур, такими как WDCM - Всемирный центр данных о микроорганизмах, WFCC - Всемирная федерация коллекций культур, ECCO - Европейская организация коллекций культур.

Каталог фонда культур представлен в нескольких форматах. У пользователей есть возможность ознакомиться с полными файлами каталога. Информация представлена в

виде текста в формате pdf. Кроме того, можно использовать разные варианты поисковой системы – по названию организма и по номеру штамма. Со страниц, посвященных отдельным штаммам, можно перейти к сведениям о составе и способах приготовления питательных сред для культивирования грибов, а также познакомиться с опубликованными исследованиями о конкретных штаммах.

В разделе Каталог ВКМ также есть возможность для пользователей сайта поиска штаммов – продуцентов различных метаболитов. Поиск осуществляется по названиям метаболитов с возможностью доступа к каталожной (табличной) записи штамма, и как следствие к публикациям, в том числе и посвященным выбранному метаболиту.

В ВКМ создана и открыта для пользователей официально зарегистрированная уникальная информационно-справочная система FungalDC (www.vkm.ru/fungalDC.htm), которая связана с важнейшими информационными ресурсами по грибам (Mycobank, IndexFungorum GenBank, WDCM). Объем включенной в базу FungalDC информации постоянно обновляется. В настоящее время она объединяет данные 279 коллекций мира из 53-х стран и обеспечивает доступ к имеющейся в мире данным по более чем 32000-м видам грибов (таксономия, номенклатура, геномика, разнообразие в коллекциях, вопросы биобезопасности и др.). Важной особенностью FungalDC, является то, что для каждого таксона проведена сверка с известными номенклатурными базами данных по грибам - Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org/>) и Mycobank (<https://www.mycobank.org/>).

myscobank.org/). Проведенная работа сделала возможным достичь соответствия в орфографии упомянутых таксонов, что значительно упрощает поиск нужного названия пользователями. Это значит, что в FungalDC исправлены замеченные многочисленные опечатки и ошибки в написании родовых названий и видовых эпитетов, которые имеются в каталогах коллекций любого уровня.

Очевидно, что интеграция множества объединенных ресурсов может помочь обобщить фрагментарные данные, имеющиеся в разных базах данных, упростить доступ к ним и обеспечить их одновременное использование.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1051.

Список литературы

1. Озерская С.М., Абсалямов С.Я., Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Василенко А.Н. База данных по библиографии о штаммах микроорганизмов ВКМ. Свидетельство о государственной регистрации базы данных. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021620998, зарегистрировано в Реестре баз данных 18.05.2021 г.
2. Озерская С.М., Кочкина Г.А., Василенко А.Н. и соавт. База данных: Фонд мицелиальных грибов Всероссийской коллекции микроорганизмов ИБФМ РАН. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2011620277, зарегистрировано в Реестре баз данных 14.04.2011 г.
3. Озерская С.М., Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Василенко А.Н. База данных по длительному хранению культур микроорганизмов ВКМ. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021620726, зарегистрировано в Реестре баз данных 15 апреля 2021 г.
4. Озерская С.М., Кочкина Г.А., Козловский А.Г. и соавт. Метаболиты мицелиальных грибов, перспективные для биотехнологии. Свидетельство о государственной регистрации базы данных №2014620181, зарегистрировано в Реестре баз данных 24.01.2014 г.
5. Василенко А.Н., Озерская С.М., Максимова Л.А. Программный комплекс генерации таблиц базы данных и страниц сайта FungalDC. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2010615942, зарегистрировано в Реестре программ для ЭВМ 10.09.2010 г.

РЕДКИЕ ВИДЫ МАКРОМИЦЕТОВ РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ: РАСПРОСТРАНЕНИЕ, СОСТОЯНИЕ ПОПУЛЯЦИЙ, ОХРАНА

А.В. Ивойлов

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, Саранск

Красная книга Республики Мордовия (ККРМ) включает 35 видов макромицетов, в том числе 5 – из отдела аскомицетов (Ascomycota) и 30 – из отдела базидиомицетов (Basidiomycota) [1]. Пять таксонов – *Amanita vittadinii* (Moretti) Vittad., *Chalciporus rubinus* (W.G. Sm.) Singer, *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr. и *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray – входят в Красную книгу Российской Федерации [2]. Ниже представлены обобщенные сведения о растущих в Мордовии макромицетах, нуждающихся в охране. Таксоны приведены в алфавитном порядке. Приоритетные названия видов грибов даны по системе *Index Fungorum*.

Amanita vittadinii (Moretti) Vittad. (= *Saproamanita vittadinii* (Moretti) Redhead, Vizzini, Drehmel & Contu). Занесен в ККРМ как редкий мультирегиональный уязвимый вид с категорией 2. В республике впервые отмечен в 2007 г. в пгт Ялга го Саранск на почве вблизи хозяйственных построек жителей поселка (HMNR F10011, 10121, 10156). В последующем плодоносил неоднократно. Однако, начиная с 2016 г., плодовые тела не наблюдались, так как на локалитете началось строительство многоквартирного дома [3, с. 61–62].

Amylocorticium subincarnatum (Peck) Pouzar. Занесен в ККРМ как редкий вид с категорией 3. В Мордовии найден один раз – в 2011 г. в кв. 447 Мордовского заповедника (Темниковский район) на валеже сосны [4, с. 23–24].

Amylocystis lapponica (Romell) Bondartsev et Singer. Занесен в ККРМ как уязвимый вид с категорией 2. В регионе зарегистрирован на территории Мордовского заповедника в кв. 344 на валежном стволе ели [4, с. 34–36].

Caloboletus radicans (Pers.) Vizzini. Занесен в ККРМ как редкий (категория 3) мультирегиональный вид с широким

ареалом, совпадающий с произрастанием видов дуба. В Мордовии отмечен один локалитет. Вид впервые найден в 2015 г. на окраине лесного массива западнее пгт Ялга го округа Саранск (кв. 263 Саранского лесничества) (LE 314970) [5, с. 427–432]. В последующем он плодоносил неоднократно [3, с. 62–63].

Cantharellus cinereus Pers. (= *Craterellus cinireus* (Pers.) Donk.). Занесен в ККРМ как редкий неморальный вид с категорией 3. В республике отмечен в Кочкуровском районе (кв. 3 и кв. 66 Кочкуровского лесничества) (LE 301191, LE 14276).

Chalciporus rubinus (W.G. Sm.) Singer (= *Rubinoboletus rubinus* (W.G. Sm.) Pilát et Dermek). Занесен в ККРМ как редкий вид с категорией 3. В Мордовии известны два местонахождения – в пригородном лесу г. Саранска (кв. 263 Саранского лесничества) и в Кочкуровском районе (кв. 133 Кочкуровского лесничества) (LE 311889, 314971, 314972, 314976, HMNR F10079, 10325). В последующем он плодоносил неоднократно [3, с. 62].

Choiromyces meandriformis Vittad. Занесен в ККРМ как редкий вид с категорией 3, для которого характерно подземное образование плодовых тел. Встречается редко, образует небольшие локальные популяции. В республике известен по находкам в Инсарском, Лямбирском и Чамзинском районах, в окрестностях г. Саранска [6, с. 32–33; 7, с. 32–33].

Clavariadelphus pistillaris (L.) Donk. Занесен в ККРМ как редкий неморальный гриб с прерывистым ареалом с категорией 3. В Мордовии отмечен в Ардатском и Чамзинском районах, в пригородных лесах г. Саранска.

Coltricia cinnatomea (Jacq.) Murrill. Занесена в ККРМ как редкий космополитный вид с категорией 3. В республике

известна одна находка в Мордовском заповеднике (кв. 34) в липняке волосисто-осоковом, на границе с территорией, затронутой пожаром: в 2012 г. было найдено 20 базидиом на площади 3 м² [4, с. 30–31].

Craterellus cornucopioides (L.) Pers. Занесен в ККРМ как редкий мультizonальный неморальный вид с категорией 3. В Мордовии отмечен в Мордовском заповеднике.

Discina fastigiata (Krombh.) Svrček et J. Moravec. Занесена в ККРМ как редкий вид с категорией 3. В республике отмечена в Большеберезниковском и Ромодановском районах на плодородных нейтральных почвах среди опада в широколиственных лесах.

Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst. Занесена в ККРМ как редкий голарктический неморальный вид с категорией 3. В Мордовии гриб известен по единственной находке в Кочкуровском районе [8, с. 11–12].

Gastrum lageniforme Vittad. Занесен в ККРМ как редкий мультizonальный неморальный вид с категорией 3. В республике отмечен один локалитет в Большеберезниковском районе в 11 км южнее с. Симкино в пойменной дубрава (HMNR F30027) [6, с. 10–11].

Gastrum rufescens Pers. Занесен в ККРМ как редкий мультizonальный неморальный вид с категорией 3. В Мордовии найден в окр. С. Каймар Краснослободского района в широколиственном лесу (HMNR F30033) [6, с. 11–12].

Gloeophyllum odoratum (Wulfen) Imazeki (= *Osmoporos odoratus* (Wulfen) Singer). Занесен в ККРМ как редкий голарктический вид с категорией 3. В республике отмечено местонахождение в кв. 375, 397 и 443 Мордовского заповедника (LE 301980) [9, с. 24].

Grifola frondosa (Dicks.) Grey. Занесена в ККРМ как редкий мультizonальный неморальный вид с прерывистым ареалом с категорией 3. В республике известна по находке в Мордовском заповеднике (кв. 443) [9, с. 20].

Gyromitra sphaerospora (Peck) Sacc. (= *Pseudorhizina sphaerospora* (Peck) Pouzar). Занесена в ККРМ как редкий голарктический бореально-неморальный вид с категорией 3. В республике найдена в Мордовском заповеднике (на просеке между кв. 439 и 440).

Gyroporus castaneus (Bull.) Quél. Занесен в ККРМ как редкий мультizonальный неморальный вид с категорией 3. В Мордовии известен по находкам 90-х гг. XX века в Инсарском и Рузаевском районах. Новые локалитеты отмечены в Кочкуровском районе (кв. 203 Саранского лесничества, HMNR F10140) и в Мордовском заповеднике [10, с. 28].

Gyroporus cyanescens (Bull.) Quél. Занесен в ККРМ как редкий мультizonальный неморальный вид с категорией 3. В Мордовии известен лишь по находкам 80-х гг. XX века в Мордовском заповеднике и окрестностях г. Саранска. Более поздними находками не отмечен.

Hapalopilus croceus (Pers.) Donk (= *Aurantiporus croceus* (Pers.) Murill.). Занесен в ККРМ как редкий неморальный голарктический вид с категорией 3. В республике найден в Мордовском заповеднике (кв. 377 и 401), в НП «Смольный» (кв. 2 Александровского лесничества) и окрестностях биостанции Мордовского университета южнее с. Симкино Большеберезниковского района на живых и мертвых стволах дуба черешчатого [6, с. 16–17]. Специализированный вид старовозрастных пойменных дубовых лесов.

Hemileccinum impolitum (Fr.) Šutara. Занесен в ККРМ как редкий мультizonальный неморальный вид с категорией 3. В республике зарегистрирован в Инсарском, Кочкуровском, Рузаевском и Чамзинском районах, в окрестностях г. Саранска. Мониторинг пригородного локалитета свидетельствует о его стабильном плодоношении [3, с. 63].

Hygrophorus russula (Schaeff. ex Fr.) Kauffman. Занесен в ККРМ как редкий вид с категорией 3. В Мордовии известен по одной находке в Кочкуровском районе (кв. 16 Саранского лесничества) (HMNR F10165) [11, с. 11–12].

Leptoporus mollis (Pers.) Quél. Занесен в ККРМ как редкий мультizonальный вид с категорией 3. В республике зарегистрирован в Мордовском заповеднике на сухостое и валеже сосны (LE 304183, HMNR F20121, F20129, F20133) [9, с. 23].

Leucoagaricus nymphaeum (Kalchbr.) Bon. Занесен в ККРМ как редкий евразийский вид с прерывистым ареалом с категорией 3. В Мордовии отмечено одно местонахождение в 2013 г. (HMNR F10169) [10, с. 14–16].

Lycoperdon mammiforme Pers. Занесен в ККРМ как редкий неморальный вид с прерывистым ареалом с категорией 3. В Мордовии известен по находке в Кочкуровском районе (кв. 26 Кочкуровского лесничества) в 2013 г. (LE 301264) [10, с. 16–17].

Melanogaster broomeanus Berk. Занесен в ККРМ как редкий вид с категорией 3. В республике вид зарегистрирован по находкам в Атяшевском и Кочкуровском районах.

Microstoma protractum (Fr.) Kanouse. Занесен в ККРМ как редкий голарктический вид с категорией 3. В Мордовии известен по находке в кв. 447 Мордовского заповедника (HMNR F50036) [12, с. 130].

Phallus hardiani Vent. Занесен в ККРМ как редкий мультireгиональный вид с широким ареалом с категорией 3. В Мордовии отмечено одно местонахождение в пос. Ялга го Саранск (LE 301263) [10, с. 19–20].

Phellogilus nigrolimitatus (Romell) Niemelä, T. Wagner et M. Fisch. Занесен в ККРМ как редкий голарктический таежный вид уязвимый с категорией 2. В республике известен только на территории Мордовского заповедника (кв. 33, LE 304172) [9, с. 27].

Polyporus umbellatus (Pers.) Fr. Занесен в ККРМ как редкий мультireгиональный вид с категорией 3. В Мордовии зарегистрирован в Большеберезниковском, Zubovo-Полянском, Кочкуровском районах, окрестностях г. Саранска

Pseudoclitopilus rhodoleucus (Sacc.) Vizzini & Contu (= *Leucopaxillus rhodoleucus* (Romell) Kühner.). Занесен в ККРМ как редкий евразийский вид с прерывистым ареалом с категорией 3. В республике отмечено одно местонахождение в 2013 г. (LE 314998) [11, с. 12–14].

Rhizopogon roseolus (Corda) Th. Fr. Занесен в ККРМ как редкий мультireгиональный вид с категорией 3. В Мордовии отмечена единственная находка в Кочкуровском районе [10, с. 19–20].

Rhodonina placenta (Fr.) Niemelä, K.H. Larss. et Schigel. Занесен в ККРМ как редкий циркумбореальный уязвимый вид с категорией 2. В республике известен по находкам в Мордовском заповеднике (HMNR F20001, F20266, F20304, F20309)

Trichoglossum walteri (Berk.) E.J. Durand. Занесен в ККРМ как редкий вид с категорией 3. В Мордовии отмечен в Мордовском заповеднике (на просеке между кв. 396 и 420).

Tyromyces kmetii (Bres.) Bondartsev et Singer. Занесен в ККРМ как редкий панголарктический вид с категорией 3. В республике гриб отмечен в Zubovo-Полянском, Кочкуровском районах, в Мордовском заповеднике (LE 314280, HMNR F20390) [6, с. 19–20; 9, с. 37].

Все перечисленные виды очень чувствительны к изменениям окружающей среды. Главным условием сохранения популяций редких макромицетов является охрана соответствующих экотопов.

Список литературы

1. Красная книга Республики Мордовия. В 2 т. Т. 1 : Редкие виды растений и грибов. Изд. 2-е, перераб. и доп./ сост. Т.Б. Силаева. Саранск : Изд-во Мордов. ун-та. 2017: 409.
2. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы). М. : Товарищество науч. изд. КМК. 2008: 855.
3. Ивойлов А.В. Мониторинг охраняемых грибов Мордовии // Международный научно-исследовательский журнал. 2021. № 11 (113), ч. 2: 60–5.
4. Редкие растения и грибы : материалы для ведения Красной книги Республики Мордовия за 2015 г. / Т.Б. Силаева, Е.В. Варгот, А.А. Хапугин [и др.] ; под общ. ред. Т.Б. Силаевой. Саранск : Изд-во Мордов. ун-та, 2015: 140.
5. Ивойлов А.В. *Caloboletus radicans* (Pers.) Vizzini. (Boletaceae) в Республике Мордовия // Известия Самарского научного центра РАН. 2018. Т. 20, № 5 (3): 427–32.
6. Редкие растения и грибы : материалы для ведения Красной книги Республики Мордовия за 2012 г. / Т.Б. Силаева, Е.В. Варгот, С.Ю. Большаков [и др.] ; под общ. ред. Т.Б. Силаевой. Саранск : Изд-во Мордов. ун-та, 2012: 80.
7. Редкие растения и грибы : материалы ведения Красной книги Республики Мордовия за 2004 г. / Т.Б. Силаева, А.М. Агеева, Н.А. Бармин [и др.] ; под общ. ред. Т.Б. Силаевой. Саранск : Изд-во Мордов. ун-та, 2004: 48.
8. Редкие растения и грибы : материалы ведения Красной книги Республики Мордовия за 2009 г. / Т.Б. Силаева, И.В. Кирюхин, Е.В. Письмаркина [и др.] ; под общ. ред. Т.Б. Силаевой. Саранск : Изд-во Мордов. ун-та, 2009: 64.
9. Большаков С.Ю. Афиллофороидные грибы Мордовского заповедника (аннотированный список видов) / под ред. И.В. Змитровича. М. : [б.и.], 2015: 44. (Флора и фауна заповедников. Вып. 123).
10. Редкие растения и грибы : материалы для ведения Красной книги Республики Мордовия за 2013 г. / Т.Б. Силаева, Е.В. Варгот, А.А. Хапугин [и др.] ; под общ. ред. Т.Б. Силаевой. Саранск : Изд-во Мордов. ун-та, 2013: 152.
11. Редкие растения и грибы : материалы для ведения Красной книги Республики Мордовия за 2014 г. / Т.Б. Силаева, Е.В. Варгот, А.А. Хапугин [и др.] ; под общ. ред. Т.Б. Силаевой. Саранск : Изд-во Мордов. ун-та, 2014: 92.
12. Большаков С.Ю., Ивойлов А.В. О находках новых для микобиоты Мордовии видов макромицетов // Известия Самарского научного центра РАН. 2012. Т. 14, № 5: 127–31.

НОВЫЕ НАХОДКИ ОХРАНЯЕМЫХ ВИДОВ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ (BASIDIOMYCOTA) В ХАНТЫ-МАНСИЙСКОМ АВТОНОМНОМ ОКРУГЕ – ЮГРЕ

Капитонов В.И.

Тобольская комплексная научная станция УрО РАН, Тобольск

В ходе экспедиционных работ в районе перспективной территории государственного природного комплексного заказника регионального значения «Местыгъеганский» в границах муниципального образования Нижневартовский район в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре (ХМАО – Югра) в 2022 году были выявлены новые местонахождения охраняемых видов базидиальных грибов, включенных в региональную Красную книгу [1]. Маршрутным методом обследованы лесные экосистемы в междуречье Большого и Малого Мегтыгъегана. Собранные автором образцы грибов гербаризированы и идентифицированы стандартными методами, и хранятся в гербарии Тобольской комплексной научной станции УрО РАН (ТОВ).

Хризомфалина золотистопластинковая – *Chrysomphalina chrysophylla* (Fr.) Clémentçon. ХМАО – Югра, Нижневартовский район, в 2,7 км на северо-восток от устья р. Малый Мегтыгъеган (N61.19208° E81.36894°), ельник-пихтарник зеленомошный с примесью березы и осины, на трухлявом валежном стволе ели (*Picea obovata* Ledeb.), одна группа из трех плодовых тел, 09.07.2022.

Редкий вид, известный в России по немногочисленным находкам в Европейской части, Сибири и на Дальнем Востоке [2]. На территории ХМАО – Югры отмечен в Сургутском и Нижневартовском районах [1, 3]. В региональном списке охраняемых видов числится как редкий вид (3 категория).

Амилоцистис лапландский – *Amylocystis lapponica* (Romell) Bondartsev & Singer. ХМАО – Югра, Нижневартовский район, в 6,0 км на северо-восток от устья р. Малый Мегтыгъеган (N61.19901° E81.42978°), ельник-пихтарник

зеленомошный с примесью сосны, кедра, березы и осины, на крупномерном валежном стволе ели (*Picea obovata* Ledeb.), одиночное плодовое тело, 08.07.2022.

Относительно редкий циркумбореальный вид, развивающийся на древесине хвойных пород, преимущественно ели [4]. В России спорадически встречается в таежной зоне от Европейской части до Дальнего Востока [5]. В ХМАО – Югре известно более 10 местонахождений вида, включая две находки в Нижневартовском районе [1, 6]. В региональный список охраняемых видов включен как редкий вид (3 категория).

Гаплопорус пахучий – *Haploporus odoratus* (Sommerf.) Bondartsev & Singer. ХМАО – Югра, Нижневартовский район, в 0,7 км на юго-восток от устья р. Малый Мегтыгъеган (N61.17895° E81.33448°), ельник-пихтарник зеленомошный с примесью кедра, березы и осины, на стволе сухостойной черемухи (*Rubus avium* Mill.), одиночное плодовое тело, 10.07.2022.

Факультативный сапротроф с голарктическим распространением, который обычно растет на живых деревьях, но продолжает свое развитие на мертвой древесине, главным образом, древовидных ив (*Salix* spp.) [7]. На территории России вид встречается спорадически и в единичных экземплярах. В ХМАО – Югре известны находки вида в пределах четырех административных районов, включая Нижневартовский [1, 6]. В региональный список охраняемых видов включен как редкий вид (3 категория).

Список литературы

1. Красная книга Ханты-Мансийского автономного округа – Югры: животные, растения, грибы / отв. ред. А. М. Васин, А. Л. Васина. 2-е изд. Екатеринбург: Баско, 2013. 460 с.
2. Bolshakov S., Kalinina L., Palomozhnykh E. et al. 2021. Agaricoid and boletoid fungi of Russia: the modern country-scale checklist of scientific names based on literature data. *Bio. Comm.* 66(4): 316–325. <https://doi.org/10.21638/spbu03.2021.404>.
3. Звягина Е.А., Байкалова А.С. 2017. Дополнение к списку макромицетов заповедника «Юганский» (Западная Сибирь) // Динамика окружающей среды и глобальные изменения климата. Т. 8. № 1. С. 25-42.
4. Ryvarden L., Melo I. 2017. *Poroid fungi of Europe*. 2nd edition. *Synopsis Fungorum* 37. 431 p.
5. Бондарцева М.А. 1998. Определитель грибов России. Порядок Афиллофоровые. Вып. 2. СПб: Наука. 391 с.
6. Filippova N., Arefyev S., Zvyagina E., et al. 2020. Fungal literature records database of the Northern West Siberia (Russia) // *Biodiversity Data Journal* 8: e52963. DOI: <https://doi.org/10.3897/BDJ.8.e52963>.
7. Zmitrovich I.V., Arefyev S.P., Bondartseva M.A. et al. 2019. Profiles of Little-Known Medicinal Polypores: *Haploporus odorus* (Agaricomycetes) // *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 21(8):783–789. DOI: 10.1615/IntJMedMushrooms.2019031583.

КСИЛОТРОФНЫЕ БАЗИДИОМИЦЕТЫ ПРЕДГОРНЫХ ЛЕСОВ АБХАЗИИ: ВИДОВОЙ СОСТАВ И ОСОБЕННОСТИ МИКОБИОТЫ

Хачева С. И.

Институт экологии Академии Наук Абхазии, Сухум, Абхазия
Абхазский Государственный Университет, Сухум, Абхазия

Ксилотрофные базидиомицеты являются ведущей группой организмов-редуцентов, определяющих скорость биологического круговорота углерода в биоценозе и контролирующих состав и структуру древостоя [1].

Целью настоящей работы является изучение разнообразия и структурных особенностей микобиоты низовых и предгорных лесов Абхазии.

Этот пояс особенно богат видами и разнообразен по растительным группировкам, так как оптимальные экологические условия и отсутствие на склонах отрицательных инверсий способствовало сохранению теплолюбивой третиной флоры. Леса низовых и предгорных районов простираются от 30 до 650–700 м. над уровнем моря, по видовому составу их можно отнести к типу широколиственных листопадных лесов с вечнозеленым подлеском и пышным развитием лиан средиземноморского типа. Однако предгорные леса имеют большее, чем низовые, разнообразие растительных ассоциаций, связанное с сильной расчлененностью рельефа. Ведущими растительными формациями являются дубово-грабовые, грабово-каштановые, буково-грабовые и каштаново-грабовые леса. Основными эдификаторами этих лесов являются: *Quercus iberica* Stev., *Carpinus caucasica* Grossh., *Castanea sativa* Mill., *Fagus orientalis* Lipsky с примесью *Acer campestre* L., *Tilia caucasica* Rupr., *Alnus barbata* C. A. Mey и ряда других. Среди широколиственных деревьев по влажным ущельям встречается реликтовое хвойное дерево *Taxus baccata* L. [2].

Изучение биоразнообразия ксилотрофных грибов проводилось в течение вегетационных периодов с июня по октябрь 2018–2021 г. Собранные образцы обрабатывали и гербаризировали в соответствии с методическими рекомендациями А. С. Бондарцева [3]. Объем порядков, семейств и родов, принятый в данной работе, соответствует 10-му изданию «Словаря грибов Айнсворта и Бисби» [4] с учетом изменений, внесенных на основе результатов современных филогенетических исследований [5]. Виды приведены в соответствии с номенклатурной базой данных *Index Fungorum* (2022).

На основании проведенных исследований в поясе низовых и предгорных лесов выявлено 133 вида ксилотрофных

базидиомицетов, относящихся к 84 родам, 31 семейству, 15 порядкам.

Информативными мерами таксономического богатства биоты являются пропорции биоты и таксономические отношения [6]. Ведущими по числу видов являются порядки: *Hymenochaetales* (26 видов/19,5% от общего видового состава), *Polyporales* (72/54,1%). На долю 2 крупных порядков приходится 98 видов ксилотрофных грибов, т. е. 73,7% от общего их числа. Порядок *Polyporales* лидирует по числу видов во всех исследованных лесах, что наглядно демонстрирует разнообразие жизненных стратегий и многообразие экологических ниш, занимаемых представителями данного порядка. Средняя видовая насыщенность семейства составляет 4,3. Ведущими семействами в биоте ксилотрофных грибов являются: *Polyporaceae* (32), *Meruliaceae* (16), *Hymenochaetaceae* (15), *Schizoporaceae* (10), *Phanerochaetaceae* (10), *Fomitopsidaceae* (9), на долю которых приходится 92 вида (69,2%). Число семейств, представленных одним видом равно 14, что составляет 10,5%. К остальным 11 семействам, содержащим от 2 до 4 видов, принадлежит 27 видов или 20,3%.

Среднее число родов в составе семейства составляет 2,7. Наибольшая родовая насыщенность характерна для семейств: *Polyporaceae* (19 родов), *Hymenochaetaceae* (9 родов), *Meruliaceae* (9 родов), *Phanerochaetaceae* (7 родов), *Fomitopsidaceae* (5 родов), *Schizoporaceae* (5 родов). К содержащим наибольшее количество видов родам относятся: *Trametes* (8), *Phellinus* (4), *Oxyporus* (4), *Ganoderma* (4), *Steccherinum* (4). Вышеперечисленные роды охватывают 24 вида, т. е. 18 % всего видового разнообразия. 55 родов (*Bondarcevomyces*, *Elmerina*, *Chondrostereum*, *Phellinidium*, *Meripilus* и др.) включает по 1 виду, что суммарно составляет 41,4% от общего числа видов. Остальные роды включают 2–3 вида, их доля в общем видовом разнообразии составляет (54 вида/40,6%).

По трофической принадлежности ксилотрофные грибы делят на экологические группы патогенов, факультативных сапротрофов и паразитов, сапротрофов. В свою очередь группа сапротрофов по состоянию питающего субстрата может быть разделена на более мелкие группы, характеризующиеся размером, структурой и положением субстрата

в пространстве [7]. Выявленный видовой состав ксилотрофных базидиомицетов характеризуется абсолютным доминированием сапротрофов (88 % от общего числа видов), развивающихся преимущественно на древесине и древесных остатках разных стадий разложения.

В исследованных лесах патогенами являются: *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With., *Fomitiporia robusta* (P. Karst.) Fiasson et Niemelä, *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Phellinus igniarius* (L.) Quél., *Pseudoinonotus dryadeus* (Pers.) T. Wagner et M. Fisch., *Porodaedalea pini* (Brot.) Murrill, *Phellinus pomaceus* (Pers.) Maire, которые при ослаблении древостоя проявляют факультативные свойства.

К факультативным сапротрофам относятся *Climacodon pulcherrimus* (Berk. et M. A. Curtis) Nicol., *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst., *Oxyporus populinus* (Schumach.) Donk, *Chondrostereum purpureum* (Pers.) Pouzar, *Ganoderma appplanatum* (Pers.) Pat., *Hapalopilus croceus* (Pers.) Donk. К факультативным паразитам относятся *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., *G. resinaceum* Boud.

Значительное количество видов приурочено к основным лесообразующим породам: на грабе отмечено 76 видов, на дубе (42 вида), буке (41), каштане (35). Общими для всех лесных формаций являются представители родов *Trametes*, *Stereum*, *Trichaptum* и др. Узкоспециализированными видами по отношению к питающему субстрату являются: *Daedalea quercina* (L.) Pers., *Hymenochaete rubiginosa* (Dicks.) Lév., *Radulodon licentii* (Pilát) Ryvar den, *Climacodon pulcherrimus*, *Hapalopilus croceus*, *Fomitiporia robusta*, *Laetiporus sulphureus*, *Fistulina hepatica*, приуроченные к древесине дуба. На тисе выявлен *Bondarcevomyces taxi* (Bondartsev) Parmasto, на самшите выявлены: *Xylodon nespori* (Bres.) Hjortstam et Ryvar den, *Peniophora cinerea* (Pers.) Cooke, *Trechispora farinacea* (Pers.) Libert, *Peniophorella praetermissa* (P. Karst.) K. H. Larss, на сосне *Porodaedalea pini*, *Postia hibernica* (Berk. et Broome) Jülich и др.

По итогам проведенных исследований 18 видов ксилотрофных базидиомицетов рекомендовано к включению в издание Красной Книги Республики Абхазия. Многие из них отмечены единичными находками: *Antrodia macra*

(Sommerf.) Niemelä, *A. malicola* (Berk. et M. A. Curtis) Donk, *A. romellii* (Donk) Niemelä, *Ceriporiopsis mucida* (Pers.) Gilb. et Ryvar den, *Bondarcevomyces taxi*, *Phylloporia ribis* (Schumach.) Ryvar den; другие встречаются спорадически: *Antrodia gossypium* (Speg.) Ryvar den, *Ceriporia excelsa* S. Lundell ex Parmasto, *Climacodon pulcherrimus*, *Fibroporia vaillantii* (DC.) Parmasto, *Hericium cirrhatum* (Pers.) Nikol., *Radulodon licentii* и др.

Редкие виды в структуре сообщества чутко реагируют на неблагоприятные изменения условий среды и быстро выпадают из состава сообщества по мере возрастания пессимальности условий. В предгорной полосе почти в нетронутым состоянии сохранились характерные типы широколиственных лесов Колхиды, здесь отмечается стабильная встречаемость редких видов в пределах всего ареала, однако необходимым условием существования видов в структуре сообществ является постоянный мониторинг и охрана существующих местообитаний.

Список литературы

1. Ставишенко И. В., Залесов С. В. Флора и фауна природного парка «Самаровский чугас. Ксилотрофные базидиальные грибы: Екатеринбург: Урал. гос. лесотехн. ун-т, 2008. 104 с.
2. Куфтырева Н. С., Лашхия Ш. В., Мгеладзе К. Г. Природа Абхазии. Сухуми: Абгосиздат. 1961. 342 с.
3. Бондарцев А. С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1953. 1106 с.
4. Kirk P. M., Cannon P. F., Minger D. W., Stalpers J. A. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi, 10th ed. – Wallingford: CAB International, 2008. 782 p.
5. Larson K. H. Re-thinking the classification of corticioid fungi. *Mycological Research*. 2007. Т. 111. Issue 9. P. 1040-1063.
6. Леонтьев Д. В. Флористический анализ в микологии: учебник для студентов высших учебных заведений. - Харьков, Изд-во ПП «Ранок-НТ», 2008. 110 с.
7. Лосицкая В. М. Афиллофоровые грибы Республики Карелия: диссертация кандидата биологических наук: Санкт-Петербург, 1999. 213 с.

ПЕРВЫЕ МИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НА ТЕРРИТОРИИ ООПТ «ЛЯПИНСКИЙ БОР» (Г. ЯРОСЛАВЛЬ)

Кондакова, Г.В., Караванова, Д.С., Ометова, Д.Ю.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова

Ляпинский бор г. Ярославля расположен в Заволжском районе на левом берегу р. Волги, включает 4 участка с общей площадью 42 га и является особо охраняемой природной территорией, памятником природы (ПП) ландшафтного профиля, имеющим региональный статус охраны. Охране подлежит массив сосновых боров древней волжской долины со старовозрастными насаждениями, характеризующийся ландшафтным и биологическим разнообразием, а также объекты растительного и животного мира. Основным типом растительности является сосняк мелкотравный зеленомошный, который занимает 97% общей площади охраняемой территории. Подлесок плохо развит, распределен неравномерно, представлен в основном рябиной (*Sorbus aucuparia* L.), осинкой (*Populus tremula* L.), встречаются липа сердцевидная (*Tilia cordata* Mill.), клен американский

(*Acer negundo* L.). Возобновление сосен практически не происходит, в подросте преобладают тонкомерные стволы. Преобладающими видами почв являются сочетания дерново-подзолистых, дерново-подзолистых глееватых. Почвообразующие и коренные породы представлены песчаными и супесчаными аллювиальными и водноледниковыми отложениями [1, 2].

Бор является экологически ценным объектом, положительно влияющим на качество воздуха, водный режим, эрозионные процессы, а также служит местом обитания биологических видов в городской среде. Однако существование вблизи границы города способствует тому, что территория бора активно используется в течение всего года как рекреационная зона и подвержена значительной антропогенной нагрузке. Участки леса в некоторых местах

пересечены отдельными бороздами, ямами и рытвинами антропогенного происхождения, сильно развита дорожно-тропиночная сеть, в наиболее удаленных участках наблюдается захламление, увеличение количества валежа. Краевые части насаждений, непосредственно соседствующие с автотрассами, подвергаются значительному загрязнению от транспортных средств.

На территории ПП выявлено 217 видов животных и растений, в том числе 2 вида растений, включенных в Красную книгу Ярославской области [3]. Однако сведения о разнообразии грибов, в том числе лишенизированных, отсутствуют, что определило необходимость проведения исследований.

Изучение видового состава грибов и лишайников на территории ПП было начато нами осенью 2021 г. На первом этапе был обследован один из четырех участков бора, наиболее близко расположенный к городской жилой застройке, площадью 20 га. Первые сборы образцов проводили в октябре маршрутным методом, обследовали все встречающиеся субстраты (живые деревья, валеж, пни, подстилку, почву). Камеральную обработку материалов осуществляли

с помощью общепринятых методик, для оценки встречаемости грибов использовали шкалу Гааса в баллах: 1 – только в одном месте (одиночно или группой), 2 – очень рассеянно, 3 – неравномерно, рассеянно, 4 – всюду часто [4]. Приоритетные названия видов, а также система приведены согласно принятым на электронном информационном ресурсе «Index Fungorum» [5]. Авторы таксонов приведены в соответствии с Authors of Fungal Names, version 2 [6]. Все идентифицированные образцы находятся в гербарии Ярославского государственного университета им. П.Г. Демидова (YAR).

В результате обработки собранного лишенологического материала обнаружено 17 видов лишайников из 13 родов, 8 семейств и 5 порядков. Наиболее разнообразным оказалось семейство Parmeliaceae (6 видов), 3 вида принадлежали семейству Physciaceae, остальные включали 1–2 вида (табл.1). Таким образом, в семейственном спектре лишенобиоты обследованной территории прослеживаются борельные черты [7].

Таблица 1

Таксономическая структура лишенобиоты первого участка ПП по результатам исследований 2021 г.

Порядок	Семейство	Кол-во родов	К о л - в о видов	То же, в % от общего	Роды с указанием количества видов
Caliciales (3 вида)	Physciaceae	2	3	17	Phaeophyscia (1) Physcia (2)
Candelariales (1 вид)	Pycnoraceae	1	1	6	Pycnora (1)
Lecanorales (11 видов)	Cladoniaceae	1	2	12	Cladonia (2)
	Lecanoraceae	1	2	12	Lecanora (2)
	Parmeliaceae	5	6	35	Evernia (1) Hypogymnia (2) Melanohalea (1) Parmeliopsis (1) Parmelia (1)
	Stereocaulaceae	1	1	6	Lepraria (1)
Teloschistales (1 вид)	Teloschistaceae	1	1	6	Xanthoria (1)
Umbilicariales (1 вид)	Ophioparmaceae	1	1	6	Hypocenomyce (1)
Всего: 5	8	13	17	100	17 видов

В спектре жизненных форм преобладали листоватые виды (53 %), накипные биоморфы составили 29 %, чешуйчато-кустистые – 12% и кустистые – 6%. Подавляющее большинство выявленных представителей относится к эпифитной экологической группе. В сложении напочвенного покрова лишайники участия практически не принимают, что вполне объяснимо, учитывая рекреационную нагрузку на территорию ПП. Большинство видов не проявляли специфичности к субстрату и росли на разных породах деревьев, но были и виды, встреченные только на одной породе. В частности, только на осине обнаружены *Lecanora symmicta* (Ach.), *Phaeophyscia orbicularis* (Neck.) Moberg, *Physcia adscendens* H. Olivier, *Physcia tenella* (Scop.) DC. Таким образом, примесь осины в сосняке увеличивает разнообразие лишенобиоты бора. Среди интересных находок следует отметить обнаруженный нами вид *Pycnora praestabilis* (Nyl.) Hafellner, который для ЯО до сих пор был известен только по одной находке в 2018 г. на территории НП «Плещеево озеро» в сфагновом сосняке урочища Блудово болото, на древесине соснового пня [8]. В нашем исследовании

он был обнаружен на сухой ветке сосны. Известно, что данный вид рассеянно встречается в ЦР и отмечен пока только в Тверской, Липецкой, Рязанской, Орловской и Брянской областях. Остальные виды являются широко распространенными.

При анализе микологических сборов было выявлено 19 видов, принадлежащих к 15 родам, 11 семействам и 4 порядкам отдела Basidiomycota (табл.2). По количеству видов преобладали семейства – Russulaceae и Tricholomataceae (по 15,8%), что характерно для лесной зоны [9, 10]. Таксономическая структура выявленной микобиоты представлена в табл.2. Большинство обнаруженных видов грибов являются типичными почвенными сапротрофами, обитателями почвы и подстилки (9 видов, 47%). Некоторые из них предпочитают богатые гумусом почвы. Среди них, в частности, *Stropharia aeruginosa* (Curtis) Quel., которая встречалась довольно часто на протяжении всего маршрута (4 балла по шкале Гааса). Это может служить показателем высокой антропогенной нагрузки на обследованную территорию ПП.

Таблица 2

Таксономическая структура микобиоты первого участка ПП по результатам исследований 2021 г.

Порядок	Семейство	Кол - во родов	Кол - во видов	То же, в % от общего	Роды с указанием количества видов
Agaricales (14 видов)	Agaricaceae	1	1	5,3	Cystoderma (1)
	Cortinariaceae	1	2	10,5	Cortinarius (2)
	Lycoperdaceae	2	2	10,5	Lycoperdon (1) Apioperdon (1)
	Mycenaceae	2	2	10,5	Mycena (1), Xeromphalina (1)
	Omphalotaceae	2	2	10,5	Gymnopus (1), Rhodocollybia (1)
	Pluteaceae	1	1	5,3	Pluteus (1)
	Strophariaceae	1	1	5,3	Stropharia (1)
	Tricholomataceae	2	3	15,8	Clitocybe (2), Tricholoma (1)
Hymenochaetales (1 вид)	Polyporaceae	1	1	5,3	Trichaptum (1)
Polyporales (1 вид)	Fomitopsidaceae	1	1	5,3	Fomitopsis (1)
Russulales (3 вида)	Russulaceae	2	3	15,8	Lactarius (1), Russula (2)
Всего: 4	11	15	19	100	19 видов

Ксилотрофы представлены преимущественно видами, развивающимися на валеже, пнях, сухостое (4 вида, 21%). Среди них неравномерно, рассеянно (3 балла) встречались *Apioperdon pyriforme* (Schaeff.) Vizzini (= *Lycoperdon pyriforme* Schaeff.), *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst. и *Trichaptum bifforme* (Fr.) Ryvarden; единично (1 балл) – *Pluteus cervinus* (Schaeff.) P. Kumm. Доля микоризообразователей, в том числе образующих микоризу с сосной, составила 32% (6 видов). Это такие виды, как *Cortinarius aureofulvus* M.M. Moser и *C. delibutus* Fr. (по 1 баллу), *Lactarius rufus* (Scop.) Fr. (2 балла), *Russula vinosa* Lindblad (3 балла), *Russula vesca* Fr. и *Tricholoma terreum* (Schaeff.) P. Kumm. (по 4 балла).

Из найденных видов 8 съедобных, 4 условно-съедобных, 1 ядовитый, остальные – несъедобны, либо их пищевые свойства противоречивы.

Таким образом, в результате проведенных исследований получены первые сведения о видовом составе грибов и лишайников, на территории ПП, которые будут в дальнейшем продолжены для наиболее полного выявления разнообразия изучаемых групп.

Список литературы

1. ООПТ России. Ляпинский бор. – Текст: электронный // Сайт информационно-аналитической системы ООПТ РФ. – URL: <http://oopt.aari.ru/oopt/Ляпинский-бор/>
2. Центр охраны окружающей среды. Ляпинский бор. – Текст: электронный // Сайт государственного бюджетного учреждения Ярославской области «Центр охраны окружающей среды». – URL: <https://yarecologia.ru/oopt/lyapinskiy-bor/>
3. Красная книга Ярославской области. Ярославль: Академия 76, 2015. С. 23-39.

4. Великанов Л.Л., Полевая практика по экологии грибов и лишайников / Л.Л. Великанов, И.И. Сидорова, Г.Д. Успенская. – М.: Изд-во МГУ, 1980. – 122 с.
5. Index Fungorum. – Текст: электронный // Сайт базы данных «Index Fungorum». – URL: <http://www.indexfungorum.org>
6. Authors of fungal names, version 2. – Текст: электронный // Сайт базы данных «Index Fungorum». Авторы названий грибов. – URL: <http://www.indexfungorum.org/authorsoffungalnames.htm>
7. Флора лишайников России: Биология, экология, распространение и методы изучения лишайников / Ответ. ред. М. П. Андреев, Д. Е. Гимельбрант. – СПб., М. – 2014. – 392с.
8. Мучник Е.Э., Кондакова Г.В., Конорева Л.А., Пауков А.Г. Новые и редкие лишенологические находки в Ярославской области (Центральная Россия) // Вестник ТвГУ. Сер. Биология и экология. – 2018. – № 1. – С. 171–182.
9. Переведенцева Л. Г. Агарикоидные базидиомицеты Пермского края // Грибные сообщества лесных экосистем. Том 3 – 2012. – 192 с.
10. Предтеченская О. О. Агарикоидные базидиомицеты Зеленого пояса Фенноскандии // Грибные сообщества лесных экосистем. Том 3 – 2012. – 192 с.

ГРИБЫ ВО ВТОРОМ ИЗДАНИИ КРАСНОЙ КНИГИ ЧЕЧЕНСКОЙ РУСПУБЛИКИ

Крапивина Е.А.¹, Тайсунов М.А.,² Кушалиева Дж. А.²¹ Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова, г. Нальчик² Академия Наук Чеченской Республики, г. Грозный

Выявление и сохранение редкой микобиоты является в настоящее время такой же актуальной проблемой, как сохранение высших растений. Первое издание Красной книги Чеченской Республики. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и животных, было опубликовано в 2007.[1] В книге описаны виды редких и исчезающих растений и животных Чеченской Республики, нуждающиеся в охране, раздела Грибы это издание не сохранило. С момента выхода в свет Красной книги прошло 13 лет. За это время в биоте Чеченской Республики произошли значительные изменения, коснувшиеся, в том числе, и краснокнижных видов. В результате мониторинговых исследований с 2012 по 2020 год был накоплен значительный объём новых данных о редких и исчезающих видах живых организмов, в частности о грибах. Коллектив авторов подготовил материал для второго издания Красной книги Чеченской Республики[2], которое вышло в ноябре 2020, список грибов включает 15 видов.

Agaricus spissicaulis F.H. Møller - Категория IV., региональные популяции относятся к категории редкости «Уязвимые» – Vulnerable, VU DB2b(iii). Растёт на лугах, полянах, предпочитает меловые почвы. Лимитирующим фактором является сбор плодовых тел населением, сезон с июля. Встречается, единично в послелесных песчаных лугах. Начинается с 200 м. до 1600 м над ур. м. Встречается в районе долины р. Шалажи, вид практически везде является редким, включен в красные списки европейских стран. Занесен в Красную книгу РСФСР и КБР [4-7].

Tricholoma colossus (Fr.) Quél., - Категория III. На Северном Кавказе помимо Кабардино-Балкарии встречается в Чеченской Республике и Краснодарском крае. В Чечне вид распространен в Аргунском и Аксайском ущельях [2-7].

Boletus fragrans Vittad.- Категория III. Региональные популяции относятся к категории редкости «Уязвимые» – Vulnerable, VU VUC2a(i); D1 Встречается, рассеяно в лесном поясе, занимает нижний горизонт гор. Начинается с 200 м. до 2500 м над ур. м. Распространение - Средиземноморье, Центральную и Западную Европу [4]. На Северном Кавказе, помимо Кабардино-Балкарии, встречается в Чеченской Республике. В Чечне произрастает в ущелье р. Гехи [2-4].

Polyporus umbellatus (Pers.) Fr.- Категория III. Единичные разрозненные находки. Приуроченность к старовозрастным широколиственным лесам. Угрозу представляют уничтожение местообитаний в связи с вырубкой лесов, а также выборочные рубки старых и больных деревьев, сбор плодовых тел населением. Вид широко распространен в Евразии, Северной Америке, Австралии. В России встречается преимущественно в зоне широколиственных лесов и южнее ее, везде редок; занесен во многие региональные Красные книги

Phellinus quercinus (J.D. Zhao) J.D. Zhao - Категория III. Региональные популяции относятся к категории редкости «Уязвимые» – Vulnerable, VU DB2b(iii) Является очень редким грибом для России. Были зафиксированы находки в Рязанской, Ульяновской и Самарской областях. На Северном Кавказе, помимо Кабардино-Балкарии, вид найден в Чеченской Республике. В Чечне распространен в Шаро-Ар-

гунском, Гехинском и Аксайском ущельях [3-6]. Внесен в Красную книгу РФ [4].

Gyroporus cyanescens (Bull.: Fr. 1821) Quel. 1886 Категория III. Региональные популяции относятся к категории редкости «Уязвимые» – Vulnerable, VU B2b(iii) вид тяготеет к старовозрастным лесам. Произрастает на минеральной или песчаной почве, в хвойных и широколиственных лесах, чаще всего с *Betula* spp., а также в сообществах с *Castanea*, *Fagus* и *Quercus* spp. Микоризный гриб, не специализированный в отношении древесной породы. Плодоносит в июле-сентябре. На Северном Кавказе встречается также в Чеченской Республике, Северной Осетии. В Чечне распространен в Аксайском и Шаро-Аргунском ущельях [2-5].

Strobilomyces strobiliformis Beck, Z. Pilzk Категория III. Региональные популяции относятся к категории редкости «Уязвимые» – Vulnerable, VU B2b(iii)/ На Северном Кавказе встречается также в Республике Адыгея; Краснодарском и Ставропольском краях, Республиках Кабардино-Балкария и Северная Осетия-Алания, в Чеченской Республике. В Чечне – в Шаро-Аргунском и Аксайском ущельях [4-9].

Clavariadelphus pistillaris (L.) Donk - Категория III. Занесён в Красные книги: РСФСР и КБР [4-6]. Региональные популяции относятся к категории редкости «Недостаточно данных» Data deficient D. На Северном Кавказе, помимо Кабардино-Балкарии, встречается в Чеченской Республике, Северной Осетии. Произрастает одиночно и группами на богатых почвах в лиственных (чаще широколиственных) и смешанных, изредка хвойных лесах, с середины лета до осени, не ежегодно. Довольно широко распространён во всём северном полушарии, чаще в субтропической и умеренной зонах. Считается редким видом, занесён в ряд региональных Красных книг России. В Чечне вид распространен в Шаро-Аргунском, Гехинском и Аксайском ущельях, в окрестностях сс. Дарго, Шарой и Шалажи [2, 4].

Grifola frondosa (Dicks.) Gray- Категория III. Занесён в Красные книги: РФ, РСФСР, КБР, СК [2-9]. Региональные популяции относятся к категории редкости «Уязвимые» – Vulnerable, VU DB2b(iii). Общий ареал – Европа, Восточная Азия, Океания, Северная Америка, Россия (европейская часть, Урал, Дальний Восток, Кавказ) [2-5]. На Северном Кавказе встречается в Кабардино-Балкарии и Чеченской Республике (в окрестностях с. Дарго) [3-6]. Необходим тщательный поиск новых местонахождений вида в Республике. Следует пропагандировать этот гриб среди местного населения

как редкий и нуждающийся в охране. Возможно искусственное разведение гриба на охраняемых территориях. Целесообразно выделение в чистую культуру и сохранение в составе грибных коллекций живых культур.

Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst. - Категория III. Занесён в Красные книги: РФ и КБР [2, 4, 6, 7]. Региональные популяции относятся к категории редкости «Уязвимые» – Vulnerable, VU B2b(ii,iii). В РФ представлен немногочисленными локальными популяциями в южных районах. На Северном Кавказе встречается в Кабардино-Балкарии и Чеченской Республике (в окрестностях с. Дарго) [3-7]. Необходимы изучение динамики популяций, поиск новых местонахождений вида в Республике. В качестве дополни-

тельной меры охраны целесообразно получение чистых культур из разных популяций вида

Leptinellus suavissimus Fr. - Категория III. Занесён в Красную книгу КБР [6].

Региональные популяции относятся к категории редкости «Уязвимые» – Vulnerable, VU DB2b(iii). Общий ареал – Европа, Россия. Встречается в Восточной Сибири (Прибайкалье), Приморском крае (Алтайский заповедник в устье р. Чири, в окрестностях пос. Турачак, в устье р. Чулышман), Европейской части России. В Чечне произрастает в Шаро-Аргунском и Аксайском ущельях, окрестностях с. Дай [2–8]. Необходимы контроль за состоянием популяций и поиск новых. Целесообразно введение вида в культуру.

Lenzites warnieri Durieu & Mont. - Категория III. Региональные популяции относятся к категории редкости «Уязвимые» – Vulnerable, VU DB2b(iii). Распространение – Европа, Казахстан, Туркмения, Северная Африка, Россия. На Северном Кавказе встречается также в Кабардино-Балкарии и Чеченской Республике. В Чечне растет в Шаро-Аргунском и Аксайском ущельях [2–5].

Polyporus arcularius (Batsch) Fr. - Категория III. Региональные популяции относятся к категории редкости «Уязвимые» – Vulnerable, VU B2b(iii)+C2a(i). Распространение – Общий ареал – Западная Европа, Азербайджан, Армения и Грузия, Россия (Дальний Восток, Урал, Сибирь, Кавказ). В Кабардино-Балкарии встречается в Суканском ущелье. На Северном Кавказе произрастает также в Чеченской Республике – в Аксайском, Аргунском и Гехинском ущельях [2–9].

Polyporus umbellatus (Pers.) Fr. - Категория III. Занесён в Красные книги: РСФСР, РА, КК, КБР [6–9]. Региональные популяции относятся к категории редкости «Уязвимые» – Vulnerable, VU B2b(iii)+C2a(i). Общий ареал – Евразия, Северная Америка, Австралия, Россия. На Северном Кавказе встречается также в Кабардино-Балкарии, Чеченской Республике, Северной Осетии. В Чеченской Республике распространен в Аксайском, Аргунском и Гехинском ущельях [2–8]. Растет в широколиственных лесах с дубом, букком, кленом, грабом, на почве или у основания стволов и пней, редко с хвойными породами, 2000–2500 м над ур. м. Поиск новых местонахождений вида. Ограничение рубок в ООПТ.

Naeporus odoratus (Sommerf.) Bondartsev & Singer - Категория III. Региональные популяции относятся к категории редкости «Уязвимые» – Vulnerable, VU DB2b(iii). Распространение – Европа, Азия, Северная Америка, Россия (европейская часть, Урал, Сибирь, Дальний Восток). На Северном Кавказе встречается также в Кабардино-Балкарии и в Чечне. В Чеченской Республике распространен в Аксайском, Аргунском и Гехинском ущельях [2–5].

Hericium coralloides (Scop.) Pers. - Категория III. Занесён в Красные книги: РСФСР и КБР [5, 6]. Распространение – Западная Европа, Северная Америка, Россия (Европейская часть, Сибирь, Дальний Восток, Кавказ). На Северном Кавказе встречается в Кабардино-Балкарии, Чечне и Северной Осетии. В Чечне произрастает в буковых лесах Веденского и Ножай-Юртовского районов [2–9].

Как правило, редкость вида бывает двух видов – естественная и антропогенная. В отношении макромицетов естественная редкость может быть обусловлена редкостью, например, симбиотрофа и т.д. Антропогенная, же связанна с нарушением сбора съедобных грибов и уничтожения местообитаний, что может быть сравнима со сбором черемши в горных лесах Центрального Кавказа.

Основным пунктом в охране грибов являются такие общие положения, как сохранение естественных мест обитания, коренных растительных сообществ, в которых встречаются грибы. Тем не менее, при выделении редкой микофиты возникает ряд затруднений. Это связано с отсутствием полных знаний об ареале конкретного вида, трудности, связанные с выявлением степени эндемизма и реликтовости, на которых базируется выделение редких сосудистых растений.

Список литературы

1. Красная книга Чеченской Республики. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и животных. - Грозный, 2007. - 605
2. Красная книга Чеченской Республики (второе издание). - Ростов-на-Дону: ООО «Южный издательский дом», 2020. - 480 с., - илл. Красная книга Чеченской.
3. Красная книга Кабардино-Балкарской Республики/ науч. ред. М. Ч. Залиханов.— Изд. 2-е.— Нальчик: Печатный двор, 2018. — 494 с.
4. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / Министерство природных ресурсов и экологии РФ; Федеральная служба по надзору в сфере природопользования; РАН; Российское ботаническое общество; МГУ им. М. В. Ломоносова; Гл. редколл.: Ю. П. Трутнев и др.; Сост. Р. В. Камелин и др. — М.: Тов-во науч. изданий КМК, 2008. — 855 с
5. Галушко А.И. Растительный покров Чечено - Ингушетии Грозный, Чечено-ингушское кн. изд-во 1975. 118с.
6. Крапивина Е.А., Шхагапсоев С.Х. Мониторинг приуроченности биоты макромицетов к основным лесобразующим породам Западной части Центрального Кавказа XII съезд РБО «Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века» Материалы всероссийской конференции (Петрозаводск, 22-27 сентября 2008) Петрозаводск 2008. Т.2. С.126-128.
7. Тайсумов М.А., Крапивина Е.А., Астамирова М.А. Ресурсное значение макромицетов Чеченской Республики// Мат-лы VIII междунар. Конф. «Проблемы лесной фитопатологии и микологии» (15-19 октября 2012) Ульяновск-Москва-Петрозаводск, 2012 изд. УГУ С. 335-338
8. Тайсумов М.А., Умаров М. У, Крапивина Е.А., Астамирова М.А., Конспект биоты макромицетов Чеченской Республики// Вестник трудов Академии наук Чеченской Республики №1, (16) 2012, 2012г. Грозный С. 331-36
9. Тайсумов М.А. Крапивина Е.А., Кушалиева Ж.А., Саламов А.К. Ксилотрофные базидиомицеты долины р. Терек // Актуальные проблемы биологии и экологии // мат-лы II Всероссийской научно-практической конференции – Грозный. 2013. 236с. ЧПГУ С. 184-191

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ БИОТЫ МАКРОМИЦЕТОВ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА

Крапивина Е.А., Козьминов С.Г.

Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова, г. Нальчик

В настоящее время возрос интерес к изучению биологического разнообразия, оценке биоресурсов регионов, сохранению уникального генофонда живых организмов как основы функционирования природных биогеоценозов и их экосистем.

Изучение и сохранение биологического разнообразия является важнейшей задачей современной биологии. Современная экологическая ситуация в глобальном и региональном масштабах обостряется, и человечество вынуждено искать эффективные меры устойчивого развития биосферы.

Западная часть Центрального Кавказа является в микологическом отношении одним из интереснейших регионов России. Географическое расположение территории и разнообразие ее почвенно-климатических условий, обуславливают уникальность и богатство ее растительного мира.

Приоритетное значение в изучении разнообразия грибов имеют охраняемые территории, представляющие собой комплекс слабонарушенных естественных экосистем, которые могут служить эталоном для оценки степени антропогенной трансформации биоценозов.

Особого внимания заслуживает изучение биоразнообразия в экотонных зонах – вблизи ботанико-географических рубежей, на стыке флористических и геоботанических районов, поскольку здесь встречаются виды и их комплексы, находящиеся на границе своего распространения, также видовое разнообразие нам дает вертикальная поясность исследуемой территории от 600 до 3000 м н ур. м.

Исследования грибов-микромитетов проводились Савинцевой З.Д. в 1960-80-х гг., при этом основное внимание уделялось паразитам травянистых пастбищных растений [1]. В результате, ею обнаружено и описано 775 видов на 1315 видах цветковых растений. В основном это паразитные виды из переноспоровых, сумчатых, главным образом, мучнисторосяных, ржавчинных, головневых и несовершенных грибов, также ранее не известные для микологической науки новые 17 видов.

В настоящее время исследование грибов-микромитетов продолжаются, выявлено 9 родов и 76 телеоморфных видов мучнисторосяных грибов (сем. *Erysiphaceae*) поражающих 216 видов покрытосеменных растений из 156 родов и 46 семейств. Из них 3 рода (*Arthrocladiella*, *Phyllactinia*, *Sawadaea*) и 31 вид являются новыми для региона [2].

Работа по выявлению видового состава макромицетов и его мониторинг проводятся с 2000 – 2022гг. Проведение микологического мониторинга, особенно актуально при разработке мер и систем охраны грибов, который направлен на оценку и прогноз состояния грибного компонента в природных экосистемах.

Аннотированный список насчитывает 852 вида, относящихся к 218 родам, 69 семействам, 23 порядкам и трем классам, 459 видов указываются впервые для Западной части Центрального Кавказа. Родовой коэффициент, определяющийся отношением числа видов к числу родов, составляет 3,7. Абсолютно, в количественном отношении преобладают представители класса *Basidiomycetes*. Видовая

насыщенность микобиоты составляет 0,31 вид на 1км², что свидетельствует об экологическом разнообразии и видовом богатстве макромицетов исследуемого региона.

Среднее содержание видов в семействах макромицетов класса *Basidiomycetes* составляет 7,9; *Ascomycetes* – 2,2, соответственно, в общем – 5,05. Лишь 15 семейств достигают такой видовой насыщенности. Десять ведущих семейств содержат 73 рода (44,34%), в общей сложности 544 вида или 63,86% от общего количества. Ведущими семействами являются: *Tricholomataceae*, *Cortinariaceae*, *Russulaceae*, содержащие 314 видов из 38 родов, что подчеркивает бореальность изучаемой микобиоты. Доминирующее положение этих трех семейств характерно также для близлежащих территорий. По исследованиям ряда авторов [4, 5, 6] представители этих трех семейств занимают господствующее положение в сложении микобиоты бореальных зон и всей Голарктики в целом, [4-6]. Помимо крупных семейств в составе микобиоты макромицетов насчитывается 10 семейств с числом видов от 1 до 5, которые содержат 86 видов (16,34% от общего количества). Обращает внимание высокое положение семейств *Entolomataceae*, *Hemenchetaceae*, *Polypogonaceae*, *Hygrophoraceae*, что носит неморальный характер.

Большинство крупных родов относятся к крупным семействам: *Cortinariaceae* -> *Cortinarius*; *Russulaceae* -> *Russula*, *Lactarius*; *Tricholomataceae* -> *Mycena*, *Tricholoma*; *Coprinaceae* -> *Coprinus*; *Agaricaceae* -> *Agaricus*; *Amanitaceae* -> *Amanita* и др. Как видно из данной таблицы, в родовом – видовом спектре ведущее место занимают типично «лесные рода» - *Cortinarius*, *Russula*, *Lactarius*, *Mycena* содержащие 205 видов (29,33% от общего числа видов).

Главная роль в сложении микобиоты принадлежит бореальному геоэлементу, который содержит 314 видов (36,9%), на втором месте стоят голарктические геоэлементы, составляющие 188 видов (22,14%), а также значительное влияние оказывают неморальные виды 152 (17,89%).

В настоящее время микобиота Западной части Центрального Кавказа представлена 1658 видами грибов (микромитеты – 806 видов, макромицеты – 852 видов).

При исследовании экологического распространения макромицетов надо учитывать связь субстратной специализации к основным лесообразующим породам. Естественный состав дендрофлоры формирует структуру сообществ микобиоты. Необходимо учитывать природно-климатические условия произрастания и его комплекса, что и определяет видовое разнообразие. Центральный Кавказ – уникальный регион, где разнообразие климатических особенностей, почвенного, растительного покровов, подчиненные вертикальной поясности горных ландшафтов создают «эффект» видового разнообразия.

При исследовании экологического распространения макромицетов надо учитывать связь субстратной специализации к основным лесообразующим породам. Естественный состав дендрофлоры формирует структуру сообществ микобиоты. Необходимо учитывать природно-климатические условия произрастания и его комплекса,

что и определяет видовое разнообразие. Центральный Кавказ – уникальный регион, где разнообразие климатических особенностей, почвенного, растительного покровов, подчиненные вертикальной поясности горных ландшафтов создают «эффект» видового разнообразия [3, 4, 5, 6].

В результате исследований выявлено, что для равнинной зоны характерны макромицеты видов: *Daldinia concentrica*, *Rhodopodium abortivum*, *Pluteus cervinus*, *Huholoma carnoides*, *Kueheromyces mutabilis*, *K. vernalis*, *Pholiota mutabilis*, *Collybia dryophylla*, *C. acervata*, *Mycena galericulata*, *M. rosella*, *Inonotus hispidus*, *Onnia tomentosa*, *Dedaleopsis confragosa*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola*, *Paxillus involutus*, *Polyporus squamosus*, *Naucoria semibicularis*. Преобладающими семействами являются *Tricholomataceae* и *Coriolaceae*. Симбиотрофами дуба являются такие виды как *Lactarius vellereus*, *L. volemus*, *Xerocomus chrysenteron*, *X. subtomentosus* и др., они также широко распространены в широколиственных и смешанных лесах. Среди ксилотрофов, найденных на древесине дуба, подавляющее большинство отмечено также и на других широколиственных и хвойных деревьях (*Armillaria mellea*, *Mycena galericulata* и др.). На листовом опаде произрастает *Marasmius alliaceus*, узко специализированным к роду *Quercus* L. является *Festulina hepatica* и 13 видов рода *Cortinarius* (*C. ceraceus*, *C. cereifolius*, *C. crassus*, *C. varicolor*, *C. pholideus*, *C. trivialis*, *C. violaceus*, *C. bulliardii*, *C. malicorius*, *C. odorifer*, *C. semisanguinea*, *C. pseudosulphureus*, *C. collinitus*).

Для предгорной зоны (в средней и верхней части лесного пояса) характерны 29 вида макромицетов из 16 родов и 11 семейств: *Daldinia concentrica*, *Rhodopodium abortivum*, *Pluteus cervinus*, *Huholoma carnoides*, *Kueheromyces mutabilis*, *K. vernalis*, *Pholiota mutabilis*, *Collybia dryophylla*, *C. acervata*, *Mycena galericulata*, *M. rosella*, *Inonotus hispidus*, *Onnia tomentosa*, *Dedaleopsis confragosa*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola*, *Paxillus involutus*, *Polyporus squamosus*, *Naucoria semibicularis* и др.

Для горной зоны определяющими семействами являются: *Tricholomataceae* (69 видов), *Cortinariaceae* (46), *Russulaceae* (23), *Agaricaceae* (15), *Strophariaceae* (13), *Coprinaceae* (11). Среди макромицетов буковых формаций этой высотной зоны выделяются широко распространенные виды: *Armillaria galica*, *A. mellea*, *Flammulina velutipes*, *Oudemansiella mucida*, *Pleurotus osteratus*, *P. pulmonarius*. На древесине различной стадии деструкции поселяются представители родов *Pluteus* (*P. cervinus*, *P. galericoides*), *Mycena* (*M. stocata*, *M. galericulata* и др.), *Crepidotus* (*C. mollis*), *Lentinus*, а также *Kueheromyces mutabilis*, *Marasmius alliaceus*, *Xerula radicata* и др. Симбиотрофы дуба широко распространены в широколиственных и смешанных лесах, образуют связи с другими листовыми и хвойными породами - *Lactarius vellereus*, *L. volemus*, *Xerocomus chrysenteron*, *X. subtomentosus* и др. Симбиотрофами сосны являются *Gomphidius glutinosus*, *G. rutilus*, *G. roseus*, *G.*

viseidus *Lactarius deliciosus* var. *pini*, *L. deliciosus* var. *pici*, *L. semisanguifluus*, *L. salmonicolor*, *L. pubescens*, *L. torminosus*, *Russula decoloran*, *R. puellaris*, *R. vesca*, *R. paludosa*, *R. eruthropoda*, *R. veteriosa*, *R. rosacea*, *R. adusta*, *Sulus luteus* [7].

Следует отметить, важность региональных исследований динамики видового разнообразия микобиоты, ее состава, структуры, распространения и экологии отдельных видов, геофизических связей и т.д., которые дают возможность сделать выводы о тенденциях изменения численности видов и разработки мер охраны биологического разнообразия грибов.

Данные по распространению и численности отдельных таксонов макромицетов были использованы при составлении очерков региональных красных книг.

Список литературы

1. Савинцева З.Д. Паразитные грибы на луговых и пастбищных растениях Кабардино-Балкарии. Нальчик. – 1982., изд-во КБГУ, - 137с.
2. Крапивина Е.А., Булгаков Т.С. Мучнисторосяные грибы Кабардино-Балкарии: новые сведения о видовом составе и питающих растениях // Материалы IX международной конференции «Биологическое разнообразие Кавказа» посвященная 65 летию Гайирбега Магомедовича Абдурахманова. Махачкала 2007. С.57
3. Крапивина Е.А., Шхагапсоев С.Х. Районирование и поясность макромицетов западной части Центрального Кавказа // Мат. между. конф. Регионы в условиях неустойчивого развития, 2010. - Кострома: КГУ. - Т. 2. - С. 150-154.
4. Крапивина Е.А., Шхагапсоев С.Х. Мониторинг приуроченности биоты макромицетов к основным лесобразующим породам Западной части Центрального Кавказа // XII съезд РБО. Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века. – Петрозаводск, 2008. - Т. 2. – С. 126-128.
5. Крапивина Е.А., Шхагапсоев С.Х. Приуроченность биоты макромицетов к основным лесным формациям западной части Центрального Кавказа // Журн. «Хвойные бореальной зоны», Т. XXVI №1 . Красноярск 2009. С. 94-97
6. Крапивина Е.А., Николаев И. А. Семейство *Tricholomataceae* в микобиоте западной части Центрального Кавказа // Труды института микробиологии национальной академии наук Азербайджана, Баку 2013, Том 11, №1 С. 358-364
7. Крапивина Е.А., Козьминов С.Г. Использование модельных групп живых организмов в экологическом мониторинге экосистем западной части Центрального Кавказа // Развитие регионов в XXI веке. Ч. I. / Мат. I. Между. конф. Владикавказ, 2013. – С. 288-291.

РАЗНООБРАЗИЕ ГРИБОВ РОДА *BEAUVERIA* НА СЕВЕРО-ЗАПАДЕ И ЮГЕ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

Леднев Г.Р., Левченко М.В., Казарцев И.А.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

Грибы рода *Beauveria* – типичные космополиты, с ярко выраженными патогенными свойствами в отношении членистоногих, способные также развиваться как сапротро-

фы или эндофиты дикорастущих и культурных растений. В последние десятилетия в связи с применением молекулярно-генетических методов в пределах данного рода про-

изошли существенные изменения. Кроме описания значительного количества криптических видов, в него было также включено несколько типичных телеморфных видов. К настоящему времени в пределах рода *Beauveria* выделяют около 30 таксонов видового ранга (Rehner et al., 2011; Kepler et al., 2017; Chen et al., 2018; Bustamante et al., 2019).

Цель настоящей работы сравнение видовой и внутри-видовой разнообразия грибов рода *Beauveria* в бореальных лесах северо-запада и степных ландшафтах юга Европейской части России.

Исследования проводились в течение шести лет в пределах Северо-западного ФО (Архангельская, Вологодская, Ленинградская, Новгородская, Псковская область и Республика Карелия, 2017–2019 г.г.) и Северокавказского и Южного ФО (Республика Дагестан и Калмыкия, Краснодарский и Ставропольский край, Астраханская, Волгоградская и Ростовская область, 2020–21 г.г.). Для первого региона координаты самой северной точки сбора материала N64.3161944, E40.8005278, южной N56.65363, E28.59866; для второго – N48.58854, E45.704412 и N42.994773, E47.25705 соответственно. На северо-западе сбор и выделение грибов проводился из ксилотрофных насекомых, прежде всего жуков-короедов (Coleoptera, Scolytinae), на юге – из саранчовых (Orthoptera, Acrididae). Таким образом контрастность сбора материала, заключалась не только в его зональности, но и в типе ландшафта и целевой группе насекомых-хозяев.

В бореальных лесах сбор трупов насекомых с признаками микозов проводили непосредственно на стволах деревьев или в листовенном опаде в приствольных кругах. В степных экосистемах собирали живых насекомых энтомологическим сачком с последующим их размещением в садках и раскладкой погибших особей во влажные камеры.

Для изоляции грибов в чистую культуру небольшие фрагменты мицелиально-спорового налета с трупов насекомых переносили в чашки Петри с модифицированной средой Сабуро (Леднев и др., 2003). Для подавления роста бактерий в среду добавляли антибиотик сульфат гентамицина из расчёта 1г на 1 л среды.

Идентификацию выделенных культур энтомопатогенных аскомицетов с использованием культурально-морфологических признаков проводили с помощью световой

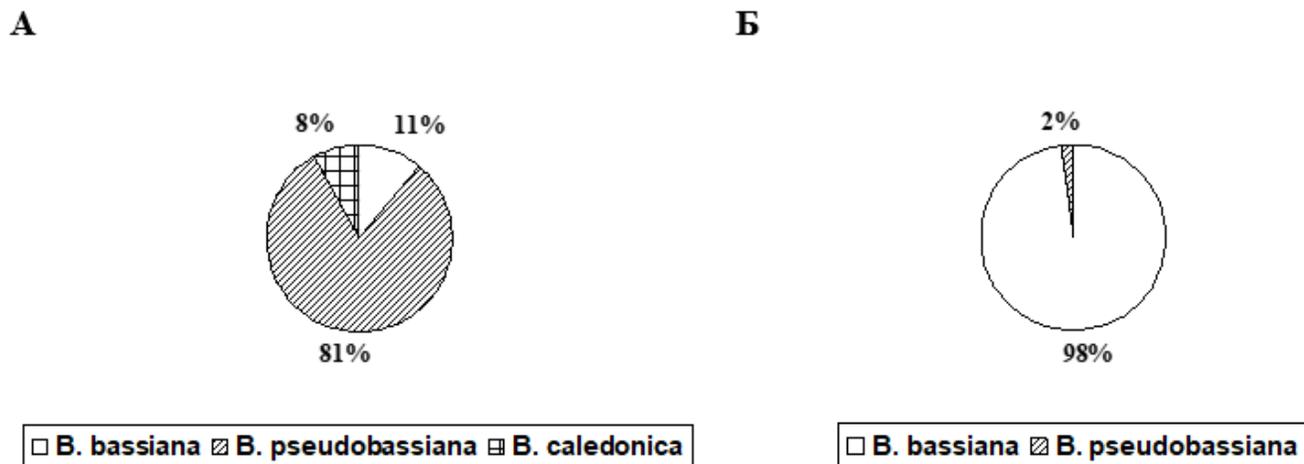
микроскопии. В дополнение было сделано секвенирование участка гена *teflα*, который признан наиболее универсальным и таксономически репрезентативным для большинства энтомопатогенных грибов (Rehner et al., 2011), и локуса *B* (*Bloc*), используемого для выявления криптических видов р. *Beauveria*.

На Северо-западе из всех локаций (31 точка) была изолирована 91 культура грибов рода *Beauveria*. Доминирующим в исследуемой выборке оказался вид *B. pseudobassiana*, встречаемость которого составила 81%. Также были обнаружены *B. bassiana* и *B. caledonica*, встречаемость которых составила 11% и 8% соответственно. В пределах первого из указанных видов, с помощью мультилокусного секвенирования, было выявлено 12 гаплотипов с неслучайным распределением. Два из них были наиболее многочисленными и широко распространенными на всей исследованной территории, тогда как другие были характерны либо для севера, либо для юга области исследования, что указывает на наличие различных субпопуляций (рис. 1А). В пределах *B. bassiana* было обнаружено четыре гаплотипа и два – у *B. caledonica*.

В выборке из аридной зоны картина в значительной степени отличалась. В данном случае было изолировано 45 культур грибов рода *Beauveria* в 8 из 21 обследованных локаций. Здесь обнаружено только два вида – *B. bassiana* и *B. pseudobassiana*, при этом последний вид был представлен только одним изолятом (2.2% от всей выборки, рис. 1Б). В пределах *B. bassiana* было обнаружено две крупные клады. Наиболее многочисленной из них (60% изолятов) оказалась клада, близкая к референсному штамму ARSEF 2040. Вторая (27% изолятов) – соответствовала ARSEF 1811. Минорное количество изолятов (3 изолята) были отнесены к кладе близкой штамму ARSEF 1564.

Анализ полученных данных полностью соответствует более ранним сведениям о том, что *B. bassiana* тяготеет к ксерофитным, а *B. pseudobassiana* – к гигрофитным станциям (Lednev et al., 2014; Medo et al., 2016). Сравнение внутривидовой структуры указанных видов по регионам показало совпадение только двух гаплотипов, по одному для каждого из них.

Рис. 1. Видовой состав грибов рода *Beauveria* на севере (А) и юге (Б) Европейской части России



Таким образом, грибы рода *Beauveria* имеют достаточ-

но широкое распространение в широтном диапазоне Ев-

ропейской части России, включая как гигрофитные, так и аридные станции. При этом их видовой состав относительно бедный и не превышает трех видов. Подтверждено четкое стациальное распределение криптических видов *B. bassiana* и *B. pseudobassiana*.

Исследование было поддержано грантом Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) № 20-016-00263 А.

Список литературы

1. Rehner S.A., Minnis A.M., Sung G.H., Luangsa-ard J.J., Devotto L., Humber R.A. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. *Mycologia*. 2011. V. 103 (5). P. 1055–1073.
2. Kepler R.M., Luangsa-ard J.J., Hywel-Jones N.L. et al. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). *IMA Fungus*. 2017. V. 8 (2). P. 335–353.
3. Chen W.H., Man L., Huang Z.X. et al. *Beauveria majiangensis*, a new entomopathogenic fungus from Guizhou, China. *Phytotaxa*. 2018. V. 333. P. 243–250.
4. Bustamante D.E., Oliva M., Leiva S. et al. Phylogeny and species delimitations in the entomopathogenic genus *Beauveria* (Hypocreales, Ascomycota), including the description of *B. peruviensis* sp. nov. *MycKeys*. 2019. V. 58: P. 47–68
5. Леднёв Г.Р., Борисов Б.А., Митина Г.В. Возбудители микозов насекомых: Пособие по диагностике. СПб.: ВИЗР, 2003. 79 с.
6. Lednev G., Tokarev Y., Uspanov A., Malysh J., Duisembekov B., Sabitova M., Levchenko M., Smagulova S., Orazova S., Amanov S., Sagitov A. Molecular criteria for screening of *Beauveria* strains used for insect pest control. *J. Biotechnology*. 2014. V. 185. P. S63–S64.
7. Medo J., Michalko J., Medová J., Čagaň E. Phylogenetic structure and habitat associations of *Beauveria* species isolated from soils in Slovakia. *J. Invertebr. Pathol.* 2016. V. 140. P. 46–50.

МИКСОМИЦЕТЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ЗАКАЗНИКА «ПРИЛУКСКИЙ» (РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ)

Мороз Е. Л.,¹ Новожилов Ю. К.²

¹Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Ботанический институт им. В. Ф. Комарова РАН, г. Санкт-Петербург

Биологический заказник (БЗ) республиканского значения «Прилуцкий» образован в 1977 году, расположен на территории Минского района Минской области. Создан для сохранения уникальных лесных массивов в естественном состоянии с популяциями редких и исчезающих видов растений и животных, занесенных в Красную книгу Республики Беларусь. Общая площадь заказника 523,06 га. Координаты: 53°46'55"N 27°22'28"E. Преобладают дерново-подзолистая, суглинистая и супесчаная почвы. Основные лесообразующие породы: сосна обыкновенная, ель обыкновенная, дуб черешчатый, ясень обыкновенный и береза. Местами встречается осина, вяз и черная ольха. Прилуцкий заказник является генетическим резерватом не только коренных древесных пород, но и интродуцентов. Здесь находятся уникальные чистые лесные культуры лиственницы европейской 1900 года посадки, насаждения дуба красного 1933 года, как чистые, так и смешанные с ясенем обыкновенным. В 1951 году были заложены насаждения бархата амурского, ореха манчжурского, псевдотсути Мензиса, ясеня пенсильванского. Встречаются единичные деревья сосны Веймутова и сосны Банкса.

Данная публикация представляет собой обобщенный список видов БЗ, ранее уже опубликованных нами (Мороз, Новожилов, 1994) и определенных гербарных образцов, собранных во время полевых работ в 1990–1991 гг., в различных биотопах заказника (окр. д. Волковичи, Минский район, Минская область). Полевые исследования и сбор образцов спорофоров осуществлялись маршрутным методом. Камеральная обработка гербарного материала проводилась в лаборатории систематики и географии грибов Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН и лаборатории микологии Института экспериментальной ботаники НАН Беларуси. Микроморфологические структуры спорофоров изучались с помощью микроскопов МБС10, Olympus SZ61, Olympus BX 51. Определение собранных образцов проводили на основании изучения морфологических признаков с использованием отечественных и зарубежных определительных пособий (Новожилов, 1993,

Martin, Alexopoulos, 1969). Названия миксомицетов приведены согласно номенклатурной базе Nomenclature (Lado, 2005–2022).

Гербарные образцы спорофоров хранятся в гербарии лаборатории систематики и географии грибов Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН (LE) и лаборатории микологии Института экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (MSK-F).

Ниже приводится аннотированный список миксомицетов, все таксоны в котором расположены в алфавитном порядке. Звёздочкой (*) отмечены виды, которые ранее были выявлены в БЗ. В аннотации приведены сведения о местонахождении, растительной ассоциации, субстрат, дата сбора, номер гербарного образца. Приводятся сведения о зональной приуроченности, распространении в мире и местонахождении вида в сопредельных с Беларусью странах. Для оценки глобального распространения и встречаемости видов использованы базы GBIF (the Global Biodiversity Information Facility, <https://www.gbif.org/species/319>) и DL (Discover Life, <https://www.discoverlife.org/mp/20m?kind>), в Латвии, Литве, Польше и Украине – Göttsche (2016–2022, <http://www.myx.dk/gen/reports/>). Данные о нахождении вида в России были получены из электронной базы “Mycetozoa of Russia” (Bortnikov et al., 2020–2022, <https://russia.mycetozoa.org/>).

**Amaurochaete comata* G. Lister & Brändza – ельник сложный, гнилая древесина сосны (*Pinus sylvestris* L.), 10 IX 1990, LE-45740.

Зональная приуроченность не выявлена из-за недостатка данных. Редкий вид.

Распространение: единичные находки в Франции, Германии, Румынии, Швеции, Швейцарии, Турции, США, Японии.

Местонахождение в сопредельных странах: не обнаружен.

Arcyria cinerea (Bull.) Pers. – сосняк черничный, гнилая древесина ольхи черной (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.), 10 VII 1991, LE-320388.

Эврибионт, политоппный полизональный космополит.
Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Arcyria denudata (L.) Wettst. – сосняк черничный, гнилая древесина ольхи черной, 10 VII 1991, LE-320395.

Лесной, полизональный космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Arcyria ferruginea Saut. – сосняк черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320402.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Литва, Польша, Россия, Украина.

Arcyria incarnata (Pers. ex J.F. Gmel.) Pers. – сосняк черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320408.

Лесной, полизональный космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Arcyria obvelata (Oeder) Onsberg – сосняк черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320416.

Бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Arcyria pomiformis (Leers) Rostaf. – сосняк черничный, гнилая древесина ели, 10 VII 1991, LE-320423.

Лесной вид, полизональный космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Ceratiomyxa fruticulosa (O.F. Müll.) T. Macbr. – сосняк черничный, гнилая древесина ольхи черной, 10 VII 1991, LE-320430.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

**Comatricha laxa* Rostaf. – ельник сосново-долгомошный, гнилая древесина сосны, 23 IX 1990, LE-320069; ельник кисличный, гнилая древесина ели, 11 VII 1991, LE-320719.

Лесной, полизональный космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Польша, Россия, Украина.

Comatricha nigra (Pers. ex J.F. Gmel.) J. Schröt. – сосняк черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320442.

Политоппный, полизональный космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Литва, Польша, Россия, Украина.

Comatricha pulchella (C. Bab.) Rostaf. – сосняк черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320448.

Политоппный полизональный космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Литва, Польша, Россия, Украина.

**Comatricha tenerrima* (M.A. Curtis) G. Lister – ельник сосново-долгомошный, гнилая древесина сосны, 23 IX 1990, LE-320078.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Литва, Россия, Украина.

Craterium leucocephalum (Pers. ex J.F. Gmel.) Ditmar – сосняк черничный, листовая опад, 10 VII 1991, LE-320459.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Cribraria atrofusca G.W. Martin & Lovejoy – ельник сосново-долгомошный, гнилая древесина ели (*Picea abies* (L.) Karst.), 23 IX 1990, LE-320089.

Лесной вид, зональная приуроченность не выявлена из-за недостатка данных.

Распространение: ограниченное в Европе, Азии, Северной Америке.

Местонахождение в сопредельных странах: Литва, Россия.

Cribraria cancellata (E. Jahn) Y. Yamam. – сосняк черничный, гнилая древесина ольхи черной, 10 VII 1991, LE-320465.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Didymium melanospermum (Pers.) T. Macbr. – сосняк черничный, гнилая древесина ольхи черной, ели, мох, 10 VII 1991, LE-320472, 11 VII 1991, LE-320617.

Лесной, бореально-неморальный вид.

Распространение: преимущественно в Европе, Северной Америке, редко в Южной Америке, Азии, Африке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

**Didymium squamulosum* (Alb. & Schwein.) Fr. & Palmquist – сосняк елово-черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320149.

Эврибионт, политоппный, полизональный космополит.

Распространение: преимущественно в Европе, Северной Америке, редко в Азии, Африке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Enerthenema papillatum (Pers.) Rostaf. – сосняк елово-черничный, гнилая древесина сосны, ольхи черной, ели, 10 VII 1991, LE-320484; ельник кисличный, гнилая древесина ольхи черной, 11 VII 1991, LE-320712.

Лесной, полизональный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Fuligo leviderma H. Neubert, Nowotny & K. Baumann – ельник сложный, гнилая древесина ольхи черной, 10 IX 1990, LE-321122.

Неморально-бореальный вид.

Распространение: преимущественно в Европе, редко в Северной Америке (США, Канада), Азии (Китай, Япония).

Местонахождение в сопредельных странах: Польша, Россия, Украина.

**Fuligo intermedia* T. Macbr. – ельник кисличный, мох, 23 IX 1990, LE-320155.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: преимущественно в Европе, Северной Америке, редко в Азии, Африке.

Местонахождение в сопредельных странах: Польша, Россия (Астраханская область) (Гмошинский и др, 2020), Украина.

Fuligo septica (L.) F.H. Wigg. – ельник кисличный, гнилая древесина сосны, ели, мох, 23 IX 1990, LE-320169; сосняк елово-черничный, гнилая древесина сосны, плодовые тела макромицетов, 10 VII 1991, LE-320491.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Hemitrichia clavata (Pers.) Rostaf. – сосняк елово-черничный, гнилая древесина ольхи черной, 10 VII 1991, LE-320498.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвии, Литва, Польша, Россия, Украина.

Lamproderma arcyrioides (Sommerf.) Rostaf. – сосняк елово-черничный, гнилая древесина ольхи черной, ели, 10 VII 1991, LE-320509, LE-320513.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия.

Leocarpus fragilis (Dicks.) Rostaf. – сосняк елово-черничный, гнилая древесина ольхи черной, листовой опад, 10 VII 1991, LE-320520.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Licea operculata (Wingate) G.W. Martin – ельник сосново-долгомошный, гнилая кора сосны, 23 IX 1990, LE-320192.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Licea variabilis Schrad. – сосняк черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320805.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: преимущественно в Европе, редко в Северной (США, Мексика) и Южной (Бразилия, Чили) Америке, Азии (Индия, Китай, Япония, Индонезия, Филиппины), Африке (Танзания), Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

**Licaethalium olivaceum* (Ehrenb.) Rostaf. – сосняк елово-черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320278.

Лесной, бореально-неморальный вид.

Распространение: редкие находки в Северной (США, Мексика) и Южной Америке (Аргентина, Чили), Европе, Азии (Китай, Япония).

Местонахождение в сопредельных странах: Литва, Польша, Россия, Украина.

Lycogala epidendrum (L.) Fr. – сосняк елово-черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320527.

Политопный, полизональный вид. Космополит.

Распространение: в Северной и Южной Америке, Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Metatrichia vesparia (Batsch) Nann.-Bremek. ex G.W. Martin & Alexop. – сосняк елово-черничный, гнилая древесина ольхи черной, мох, 10 VII 1991, LE-320534.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Mucilago crustacea P. Micheli ex F.H. Wigg. – сосняк елово-черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320541.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Paradiacheopsis fimbriata (G. Lister & Cran) Hertel ex Nann.-Bremek. – сосняк елово-черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320548.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: преимущественно в Европе, в Северной (США, Мексике), Центральной (Панама) и Южной Америке (Эквадор, Перу, Чили), Азии (Китай, Тайвань, Япония), Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Россия, Украина.

Perichaena chrysosperma (Curr.) Lister – ельник сложный, гнилой коре и древесине ольхи черной, 23 IX 1990, LE-320222.

Эврибионт, политопный, полизональный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Perichaena depressa Lib. – сосняк елово-черничный, гнилая древесина ольхи черной, 10 VII 1991, LE-320563.

Эврибионт, политопный, полизональный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Литва, Польша, Россия, Украина.

Physarum bethelii T. Macbr. ex G. Lister, – ельник сосново-долгомошный, гнилая древесина сосны, 23 IX 1990, LE-320233.

Зональные предпочтения не выявлены из-за недостатка данных.

Распространение: в Европе (Бельгия, Финляндия, Франция, Германия, Испания, Нидерланды, Швейцария,

Румыния, Россия), Азии (Китай), Северной (США, Канада) и Южной Америке (Бразилия, Аргентина, Чили).

Местонахождение в сопредельных странах: Польша, Россия.

Physarum bivalve Pers. – ельник сложный, гнилая древесина сосны, 23 IX 1990, LE-320656.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Литва, Польша, Россия, Украина.

Physarum contextum (Pers.) Pers. – сосняк елово-черничный, гнилая древесина сосны, 11 VII 1991, LE-320637.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Physarum leucophaeum Fr. & Palmquist – сосняк елово-черничный, гнилая древесина ели, мох, 10 VII 1991, LE-320632.

Полиотопный, полизональный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Литва, Польша, Россия, Украина.

Physarum virescens Ditmar – ельник сосново-долгомошный, мох, 23 IX 1990, LE-320264.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Physarum viride (Bull.) Pers. – ельник сосново-долгомошный, гнилая древесина сосны, ольхи черной, 23 IX 1990, LE-320270.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Stemonitis axifera (Bull.) T. Macbr. – сосняк елово-черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320284.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Stemonitis flavogenita E. Jahn – сосняк елово-черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320287.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Россия, Литва, Польша, Украина.

Stemonitis fusca Roth – сосняк елово-черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320296.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Stemonitis pallida Wingate – ельник сосново-долгомошный, гнилая древесина сосны, 23 IX 1990, LE-320301.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Северной и Южной Америке, Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Литва, Польша, Россия, Украина.

Stemonitis splendens Rostaf. – сосняк черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320309.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Польша, Россия, Украина.

Stemonitis virginensis Rex – сосняк черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320312.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: часто, преимущественно в Европе, Северной Америке (США, Мексика), редко в Южной Америке (Бразилия, Аргентина), Азии (Индия, Китай, Тайланд, Тайвань, Япония), Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Польша, Россия, Украина.

Stemonitopsis typhina (F.H. Wigg.) Nann.-Bremek. – сосняк черничный, гнилая древесина ольхи черной, 10 VII 1991, LE-320453.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Trichia botrytis (J.F. Gmel.) Pers. – сосняк черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320320.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Trichia contorta (Ditmar) Rostaf. – сосняк черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320328.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Россия, Латвия, Литва, Польша, Украина.

Trichia decipiens (Pers.) T. Macbr. – сосняк черничный, гнилая древесина ольхи черной, 10 VII 1991, LE-320340.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Trichia favoginea (Batsch) Pers. – сосняк черничный, гнилая древесина ольхи черной, 10 VII 1991, LE-320350.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Trichia scabra Rostaf. – сосняк черничный, гнилая древесина ольхи черной, 10 VII 1991, LE-320361.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Trichia varia (Pers. ex J.F. Gmel.) Pers. – сосняк черничный, гнилая древесина ольхи черной, 10 VII 1991, LE-320371.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

Tubifera ferruginosa (Batsch) J.F. Gmel. – сосняк черничный, гнилая древесина сосны, 10 VII 1991, LE-320380.

Лесной, бореально-неморальный вид. Космополит.

Распространение: в Европе, Азии, Африке, Северной и Южной Америке, Австралии.

Местонахождение в сопредельных странах: Латвия, Литва, Польша, Россия, Украина.

В результате наших исследований идентифицировано 53 вида миксомицетов, относящихся к 24 родам, 10 семействам, 5 порядкам.

Литература

1. Мороз Е. Л., Новожилов Ю. К. 1994. Новые и редкие виды миксомицетов (Mycetozoa) Белоруссии. Микология и фитопатология, Т. 28, Вып. 3, с. 21-27.

2. Новожилов Ю. К. 1993. Класс Миксомицеты. Определитель грибов России: отдел Слизевики; вып. 1. СПб.: 288 с.
3. Martin G. W., Alexopoulos C. J. 1969. The Myxomycetes. Iowa City: 561 p.
4. Lado (2005–2022). An on line nomenclatural information system of Eumycetozoa. <http://www.nomen.eumycetozoa.com>. (Date of access: 15 VII 2022).
5. DL (Discover Life). <https://www.discoverlife.org/mp/20m?kind> (Date of access: 09 VIII 2022).
6. GBIF (The Global Biodiversity Information Facility). <https://www.gbif.org/species/319> (Date of access: 09 VIII 2022).
7. Gøtzsche H. F. (2016–2022). World reports of Myxomycetes. <http://www.myx.dk> (Date of access: 21 III 2022).
8. Bortnikov F., Matveev A., Gmshinskiy V. et al., Myxomycetes of Russia: information system on myxomycete distribution in Russia. 2020–2022.

РАЗНООБРАЗИЕ ВИДОВ РОДА PUCCINIA НУРАТИНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ЗАПОВЕДНИКА, УЗБЕКИСТАН

И.М. Мустафаев

Институт ботаники Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

Нуратинский государственный заповедник (НГЗ) расположен между 40,468487° с.ш. до 40,562476° с.ш. и 66,65931° в.д. до 66,927651° в.д. в центральной части Нуратинского хребта. НГЗ создан в 1975 году. Площадь НГЗ составляет 17 752 км² высота от 530 до 2169 м над ур. м. Горы Нуратау с прилегающими к ним небольшими островными хребтами периферийные северо-западные отроги Памиро-Алайской горной системы вклиниваются вглубь пустыни Кызылкум. Они состоят из двух параллельных горных цепей, вытянутых на 250 км вдоль правого берега р. Зеравшан. На юго-востоке, Горы Нуратау отделены от Туркестанского хребта долиной реки Санзар. Северная ветвь Нуратау имеет длину около 200 км, а самая высокая вершина 2169 м над уровнем моря. Климат НГЗ умеренно-континентальный. Флора Нуратинских гор включает 1289 видов сосудистых растений, из них 34 местных эндемика. Флоры НГЗ включает 820 видов из 385 родов и 81 семейств [1].

Изучение ржавчинных грибов имеет важное экономическое и сельскохозяйственное значение. Узбекистан имеет самое большое разнообразие ржавчинных грибов по сравнению с другими странами Центральной Азии. По данным Рамазановой и др. существует 261 вида ржавчинных грибов, которые выявлены на 511 видах растений-хозяев, принадлежащие к 43 семействам [1]

Планомерное изучение миксомицетов сосудистых растений НГЗ нами начато с 2009 года и в период 2009-2021 гг нами собрано более 1000 образцов гербария миксомицетов. Образцы ржавчинных грибов были исследованы с помощью светового микроскопа и идентифицированы с использованием соответствующей литературы [2], [3], [4], [5], [6].

На территории НГЗ выявлены 70 видов ржавчинных грибов на 91 вида питающих растений относящихся к 67 родам и 24 семействам [7]. Среди выявленных ржавчинных грибов род *Puccinia* занимает доминирующее положение. На территории НГЗ выявлены 45 видов рода *Puccinia* на 59 видах растений. Ниже приведены список видов рода *Puccinia* и их питающих растений.

Puccinia absinthii DC. – *Artemisia juncea* Kar. & Kir., *Artemisia sogdiana* Bunge, *Artemisia tenuisecta* Nevski,

P. asteris Duby – *Dieteria canescens* (Pursh) Nutt. (= *Aster canescens* Pursh).

P. bulbocastani (Cumino) Fuckel – *Bunium chaerophylloides* (Regel & Schmalh.) Drude.

P. cesatii J. Schröt. – *Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng.

P. cousiniae P. Syd. & Syd. – *C. eriotricha* Juz., *C. umbrosa* Bunge, *C. radians* Bunge, *C. resinosa* Juz., *C. korolkowii* Regel & Schmalh., *C. pseudodshisakensis* Tschern. & Vved.

P. drobovii Solkina – *Mediasia macrophylla* Pimenov.

P. echinopsis DC. – *Echinops nuratavicus* A.D. Li

P. komarovii Tranzschel – *Impatiens parviflora* DC.

P. kupreviczii Golovin – *Scutellaria ramosissima* Popov

P. libani Magnus – *Prangos pabularia* Lindl., *Ferula ovina* (Boiss.) Boiss.

P. medioasiaticae Uljan. – *Hypericum scabrum* L.

P. monticola Kom. – *Geranium linearilobum* DC.

P. menthae Pers. – *Mentha longifolia* var. *asiatica* (Boriss.) Rech.f. (= *Mentha asiatica* Boriss.).

P. platypoda Syd. & P. Syd. – *Atraphaxis virgata* (Regel) Krasn.

P. punctata Link – *Asperugo procumbens* L., *Galium spurium* L. G. *humifusum* M.Bieb., *G. pamiroalaicum* Pobed., *G. aparine* L.

P. phlomidis Thüm. – *Leonurus turkestanicus* V.I. Krecz. & Kuprian, *Eremostachys kaufmanniana* Regel.

P. pyrethri Rabenh. – *Tanacetopsis karataviensis* (Kovalevsk.) Kovalevsk, *Lepidolopsis turkestanica* (Regel & Schmalh.) Poljakov.

P. celakovskyana Bubák – *Galium pamiroalaicum* Pobed., *G. karakulense* Pobed.

P. cirsii-lanceolati J. Schröt. (= *Puccinia cirsii* (DC.) Sacc.) – *Picnomon acarna* (L.) Cass.

P. malvacearum Bertero ex Mont. – *Malva neglecta* Wallr., *Alcea litvinovii* (Iljin) Iljin.

P. centaureae Mart. – *Rhaponticum repens* (L.) Hidalgo (= *Acroptilon repens* (L.) DC.)

P. taraxaci Plowr. – *Taraxacum officinale* Webb.

P. caricina DC. – *Urtica dioica* L.

P. echinopsis DC. – *Echinops nuratavicus* A.D. Li

P. cichorii (DC.) Belynyck – *Cichorium intybus* L.

P. conferta Dietel & Holw. – *Artemisia juncea* Kar. & Kir.

P. cynodontis Lacroix ex Desm. – *Cynodon dactylon* (L.) Pers.

P. eremuri Kom. – *Eremurus olgae* Regel, *E. sogdianus* (Regel) Benth. & Hook.

P. plicata Kom. – *Prangos pabularia* Lindl.

P. falcariae Fucel – *Falcaria vulgaris* Bernh.

P. ziziphorae P. Syd. & Syd. – *Ziziphora clinopodioides* Lam.

P. jaceae G.H. Otth – *Centaurea squarrosa* Willd.

P. schneideri J. Schröt. – *Thymus seravschanicus* Klovov.

P. persistens Plowr. – *Thalictrum isopyroides* C.A. Mey.

P. bromina Erikss. – *Bromus sterilis* L., *Bromus inermis* Leyss.

P. litvinovii Tranzschel & Erem. – *Alcea litvinovii* (Iljin) Iljin

P. littoralis Rostr. – *Juncus inflexis* L.

P. onopordi P. Syd. & Syd. – *Onopordum olgae* Regel & Schmalh.

P. stipina Tranzschel – *Origanum vulgare* subsp. *gracile* (K.Koch) Ietsw.

P. poarum E. Nielsen – *Poa pratensis* L.

P. fucelii P. Syd. & Syd. – *Jurinea olgae* Regel & Schmalh.

c – *Viola suavis* M.Bieb.

P. prenanthis (Pers.) Lindr., (= *Puccinia chondrillae* Corda) – *Chondrilla* sp.

P. sogdiana Kom. – *Ferula moschata* (H.Reinsch) Koso-Pol., *F. kokanica* Regel & Schmalh., *F. angreni* Korovin

P. behenis G.H. Otth – *Silene obtusedentata* B.Fedtsch. & Popov.

В результате изучения ржавчинных грибов отмечено что виды рода *Puccinia* впервые обнаружены на 13 видах растений в Узбекистане: *Galium karakulense* – *Puccinia celakovskyana*, *Cousinia eriотricha* и *C. Pseudodshisakensis* – *Puccinia cousiniae*, *Echinops nuratavicus* – *Puccinia echinopsis*, *Geranium linearilobum* – *Puccinia monticola*, *Onopordum olgae* – *Puccinia onopordi*, *Thalictrum isopyroides* – *Puccinia persistens*, *Leonurus turkestanicus*, *Phlomis thapsoides* – *Puccinia phlomidis*, *Tanacetopsis karataviensis* – *Puccinia pyrethri*, *Thymus seravschanicus* – *Puccinia schneideri*, *Ferula angreni* – *Puccinia sogdiana*.

Из выявленных видов рода *Puccinia* три вида – *Puccinia behenis*, *P. onopordi* и *P. Schneideri* впервые обнаружены в Узбекистане

Список литературы

1. Tojibaev K. Sh., Beshko N. Yu., Popov V. A., Jang, C. G., Chang, K. S. 2017. Botanical Geography of Uzbekistan. Pocheon: 250 p.
2. Флора грибов Узбекистана. Т. 3. 1986. Ташкент: 230 с.
3. Ульянищев В.И. Определитель ржавчинных грибов СССР. В 2-х ч. – Л.: Наука, 1978. Ч. 2. - 382 с.
4. Азбукина З.М. Ржавчинные грибы. В 2-х т. – Владивосток: Дальнаука, 2005. Т.1. С. 616.
5. Мустафаев И.М. Новый вид ржавчинных грибов (Pucciniales) для микобиоты Узбекистана // Доклады АН РУз. – Ташкент, 2016. -№6. – С. 84-86.
6. Мустафаев И.М., Нуралиев Х.Х. Ржавчинные грибы Нуратинского заповедника // Биологический журнал Узбекистана. – Ташкент, 2012.- № 2 - С. 20-23
7. Мустафаев И.М. Микромитеты сосудистых растений Нуратинского заповедника: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ташкент, 2018. - 20 с.

НОВЫЕ И МАЛОИЗВЕСТНЫЕ ВИДЫ МИКРОМИЦЕТОВ ЮГО-ВОСТОКА КАЗАХСТАНА

Рахимова Е.В., Кызметова Л.А., Асылбек А.М., Сытабеккызы Г.
РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» КЛХЖМ МЭГПР, Алматы, Казахстан

Территория юго-востока Казахстана является одной из самых хорошо изученных в микологическом отношении [1, 2]. Однако, почти ежегодно обнаруживаются виды грибов, ранее не отмечавшиеся в Казахстане.

Микологическое обследование территории юго-востока Казахстана проводилось маршрутным методом в разные годы. Географическое положение каждого места сбора образцов было записано с использованием GPS (Germin). Обработка гербарного материала, сушка, приготовление временных препаратов проводилось по общепринятым методикам [3]. Обнаруженные грибы были идентифицированы с помощью соответствующих определителей.

В статье представлены морфологические описания, экологические и географические данные о новых и малоизвестных для Казахстана видах микромицетов.

Работа выполнена при финансовой поддержке научно-технической программы «Кадастровая оценка современного экологического состояния флоры и растительных ресурсов Алматинской области как научная основа для эффективного управления ресурсным потенциалом» (BR10264557).

Вид *Heteropatella polygoni* Schwarzman был впервые описан в 1970 году, на *Polygonum bucharicum* Grig. [4]. Образцы были собраны в высокогорье Западного Тянь-Шаня на территории, относящейся в настоящее время к Узбекистану. Более 50 лет вид не отмечали в Казахстане.

Пикниды *Heteropatella polygoni* образуются на отмерших стеблях хозяина, многоклеточные, густо расположенные, шаровидные, чаще приплюснутые, 250-350 мкм в диаметре. Стенки пикнид темно-коричневые. Конидиеносцы ветвистые, бесцветные, 5-7 мкм длиной. Споры вначале

одноклетные, затем с 1-2 перегородками, веретеновидные, до 15 мкм длиной, с удлинённым придатком, бесцветные, с каплями масла.

На территории юго-востока Казахстана *Heteropatella polygoni* была обнаружена в следующих местообитаниях:

на *Aconogonon alpinum* (All.) Schur, Алматинская область, Ескельдинский р-н, хр. Джунгарский Алатау, ущ. Кора, левый берег р. Кора, пойменный смешанный лес, т. 399, 1524 м над уровнем моря, N44°55'46.2", E078°53'24.8", 16.06.2021, Л.А. Кызметова;

на *Aconogonon sp.*, Алматинская обл., Саркандский р-н, Жонгар-Алатауский национальный парк, ущ. Жаланаш, южная сторона оз. Нижнего Жасылколя, смешанный лес, т. 445, 1664 м над уровнем моря, N45°23'56.9", E080°34'58.0", 23.08.2021, А.М. Асылбек.

Необходимо отметить, что в базе данных Index Fungorum указаны 18 видов рода *Heteropatella* Fuckel, сумчатой стадией для некоторых из них являются дискосицеты – пред-ставители рода *Heterosphaeria* Grev.

Вид *Heterosphaeria umbilicata* (Pers.) W.J. Li & K.D. Hyde мало известен в Казахстане, несмотря на то, что он встречается на различных травянистых растениях. Впервые вид был обнаружен в 2010 году на мертвых листьях *Saxifraga cernua* L., (Алматинская область, Енбекшиказахский р-н, хр. Заилийский Алатау, ущ. Иссык, 3436 м над уровнем моря, N43°07'52.5", E77°30'25", 03.08.2005, A. Chlebicki [5]).

Пикниды *Heterosphaeria umbilicata* образуются на отмерших листьях и стеблях хозяина-на, немногочисленные, шаровидные, чаще приплюснутые, 350-550 мкм в диаметре. Стенки пикнид гладкие, голые, буровато-коричневые или темно-коричневые. Конидиеносцы прямо-стоячие, ветвистые, бесцветные, 5-7 мкм длиной, образующие на концах по одной споре. Споры вначале одноклетные, затем с 1-2 перегородками, веретеновидные, до 30 мкм длиной, с удлинённым придатком, бесцветные, с каплями масла.

На территории юго-востока Казахстана *Heterosphaeria umbilicata* в конидиальной стадии (*Heteropatella umbilicata* (Pers.) Grove) была обнаружена в следующих местообитаниях:

на *Hedysarum semenowii* Regel & Herder, Алматинская обл., Карасайский р-н, хр. Заилийский Алатау, Иле-Алатауский национальный парк, Большое Алматинское ущ., западный склон, еловый лес, т. 296, 2537 м над уровнем моря, N43°03'32.7", E76°59'17.1", 04.09.2018, Л.А. Кызметова.

В 1947 году был обнаружен вид *Heterosphaeria hendersonioides* (Fautrey & Lambotte) W.J. Li & K.D. Hyde, в конидиальной стадии (*Heteropatella hendersonioides* Fautrey & Lambotte, *Pestalozzina hendersonioides* (Fautrey & Lambotte) Died.) на *Vupleurum aureum* Fisch. ex Hoffm. Образец был собран в Алматинской обл., Карасайском р-н,

хр. Заилийский Алатау, Малое Алматинское ущ., Лебедева щель, 03.05.1947, С.Р. Шварцман. Больше на территории юго-востока Казахстана вид не отмечался.

Отмечен также редкий и малоизвестный вид *Didymosphaeria berberidis* Domashova, обнаруженный впервые 76 лет назад на *Berberis sphaerocarpa* Kar. & Kir. (Алматинская обл., Карасайский р-н, хр. Заилийский Алатау, ущ. Глубокая щель, 09.11.1945, М.Н. Кузнецова). Нами вид обнаружен так же на *Berberis sphaerocarpa*, в Райымбекском р-не, хр. Терской Алатау, ущ. Большой Какпак, в кустарниковых зарослях, т. 299, 1869 м над уровнем моря, N42°46'45.8", E079°53'25.9", 09.09.2021, А.М. Асылбек.

К малоизвестным видам можно отнести *Kabatiella berberidis* (Cooke) C.G. Shaw & Arx обнаруженный 65 лет назад на *Berberis sphaerocarpa* Kar. & Kir. (Кербулакский р-н, горы Матай, 3.08.1957, М.П. Васягина). Нами вид обнаружен дважды: на *Berberis sphaerocarpa* Kar. & Kir., Панфиловский р-н, хр. Джунгарский Алатау, ущ. Большой Усек, смешанный лес, т. 310, 960 м над уровнем моря, N44°21'10.1", E079°53'23.9", 14.09.2021, А.М. Асылбек; Райымбекский р-н, хр. Терской Алатау, ущ. Большой Какпак, кустарниковые заросли, т. 299, 1869 м над уровнем моря, N42°46'45.8", E079°53'25.9", 09.09.2021, А.М. Асылбек.

Итак, за последние 5 лет, на юго-востоке Казахстана обнаружен один новый вид *Heteropatella polygoni* и три малоизвестных: *Heterosphaeria umbilicata*, *Didymosphaeria berberidis* и *Kabatiella berberidis*.

Список литературы

1. Калымбетов Б.К. Микологическая флора Заилийского Алатау (Северный Тянь-Шань). – Алма-Ата: Наука, 1969. – 470 с.
2. Рахимова Е.В., Нам Г.А., Еремкова Б.Д., Джетигенова У.К., Кызметова Л.А., Есенгулова Б.Ж. Разнообразие грибов пустынных низкогорий юго-востока Казахстана и хребта Кетмень. – Алматы: Luxe Media, 2017. – 300 с.
3. Поликсенова В.Д., Храмов А.К., Пискун С.Г. Методические указания к занятиям спецпрактикума по разделу «Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов». – Мн.: Изд-во БГУ, 2004. – 36 с.
4. Бызова З.М., Васягина М.П., Деева Н.Г., Калымбетов Б.К., Писарева Н.Ф., Шварцман С.Р. Флора споровых растений Казахстана. Сферосидные – Алма-Ата, 1970. – Том 5, кн. 3. – 418 с.
5. Chlebicki A. Fungi on higher plants of the upper limit of alpine zone in Tian Shan // Mycotaxon. – 2010, vol. 110. – 451-454

НАЧАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О ФЕНОЛОГИИ МИКСОМИЦЕТОВ В ОКРЕСТНОСТЯХ КАЗАНИ

Садыков Р.Э., Потанов К.О.

Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань

С недавнего времени на территории Республики Татарстан начато системное исследование биоразнообразия миксомицетов и внедрения методов математической статистики для изучения экологических особенностей их обитания. Одним из ключевых элементов данной системы выступил анализ фенологического распределения видов внутри конкретного региона в окрестностях города Казань, включающего многообразие сравнительно малопло-

щадных лесных и заболоченных экосистем. При этом, иные экологические характеристики – про-странственное распространение и приуроченность к микростообитаниям – не могут быть даны по данным единичных сборов, что показывает косвенную важность фенологических исследований. Полевой материал отбирался площадным методом с 05.2020 по 06.2022 в окрестностях города Казань с посещением площадок дважды в весенний, летний и осенний

сезон. Включает 634 образца, внесенных в базу данных с присвоением целочисленных значений среднесуточной температуры воздуха в момент сбора и дня сбора, относительно 365 дней. По этим факторам в программной среде R проводился кластерный анализ методом К-средних. Полученные кластеры переносились для интерполирования и определения характерности видов для того или иного кластера. Так, характерными видами обладают 5 кластеров – фенологических групп. Преимущественно поздневесенние: *Hemitrichia calyculata*, *Metatrichia floriformis*, *Physarum contextum*, *Clastoderma debaryanum*, *Licea biforis*, *Fuligo cinerea*. Летние: *Arcyria cinerea*, *A. obvelata*, *Ceratiomyxa fruticulosa*, *C. morchella*, *Comatricha anomala*, *C. pulchella*, *Cribraria cancelata*, *C. intricata*, *Perichaena corticalis*, *Physarum leuco-pheum*, *Ph. pezizoideum*, *Ph. tenerum*, *Ph. viride*, *Stemonitis axifera*, *S. fusca*, *S. pallida*, *S. smithii*, *Fuligo septica*, *Mucilago crustacea*, *Tubifera magna*, *T. dudkae*, *T. montana*. *Lycogala exiguum*, *L. epidendrum*, *L. flavofuscum*. Осенние: *A. denudata*, *A. major*, *A. oerstedtii*, *A. stipata*, *A. virescens*,

Barbeyella minutissima, *Comatricha longipila*, *C. nigra*, *C. rutilipedata*, *Craterium leuco-cephalum*, *C. purpurea*, *C. vulgaris*, *C. rufa*, *Fuligo leviderma*, *H. clavata*, *H. leiotricha*, *H. serpula*, *Leocarpus fragilis*, *Licea parasitica*, *Physarum cinereum*, *Ph. citrinum*, *Ph. stellatum*, *Reticularia lycoperdon*, *Trichia erecta*, *T. favoginea*, *Trichia botrytis*, *Tubifera ferruginosa*, *Syphotichium vilaceum*. Позднеосенние: *M. vesparia*, *Amaurochaete atra*, *Arcyodes incarnata*, *Arcyria incarnata*, *A. ferruginea*, *Fuligo luteonitens*, *Hemitrichia intorta*, *Ph. didermoides*; *Stemonitis splendens*, *S. herbatica*. Необходимо отметить, что многие спороношения *C. purpurea*; *H. clavata*; *M. vesparia*; *T. contorta*; *T. decipiens*; *T. persimilis*; *T. scabra*; *T. varia* в весенний период были обнаружены в свежем состоянии, что говорит о приспособленности этих осенних видов сохранять споры в спорокарпах под снежным покровом для распространения генетического материала весной, когда создаются сходные с основным сезоном термические и гидрологические условия.

БИОЛОГИЯ ВИДОВ РОДОВ *POSTIA* FR. И *TYROMYCES* P.KARST НА ЮЖНОМ УРАЛЕ

Сафонов М.А.¹, Сафонова Т.И.¹

¹ФГБОУ ВО Российская академия народного хозяйства и государственной службы при Президенте Российской Федерации. Оренбургский филиал

²ФГБОУ ВО Оренбургский государственный аграрный университет

Список базидиальных древоразрушающих грибов Южного Урала в пределах Оренбургской области и южных районов Башкортостана включает 320 видов из 126 родов и 46 семейств, относящихся к 15 порядкам класса *Agaricomycetes* отдела *Basidiomycota* [1]. Эти виды отличаются по морфологии и консистенции базидиом, по структурным элементам гимения; отличия в биологии отдельных видов определяют их численность и распространение в регионе. Некоторые виды, такие как *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Phellinus igniarius* (L.) Quel., *Stereum subtomentosum* Pouzar, *Trametes versicolor* (L.) Lloyd встречаются в разных биотопах и на разных субстратах в разных районах региона – в пределах степной и лесостепной зоны [2]. Другие виды ограничены в своем распространении конкретными локациями и/или узким спектром заселяемых субстратов; в частности, это относится к грибам сосновых насаждений региона [3, 4].

К числу грибов с ограниченным распространением в регионе относятся виды родов *Postia* Fr. и *Tyromyces* P.Karst. Это виды, встречающиеся на древесине более и менее широкого спектра лиственных и хвойных деревьев; их базидиомы однолетние, хрупкие или реже прочные, преимущественно малых размеров (от 1 см до 15 см), резупинантные, распростерто-отогнутые или в форме боком прикрепленных шляпок. Представители обоих родов – монотипики, в гимении которых могут присутствовать цистиды и другие стерильные элементы. Между представителями родов есть заметное отличие по форме спор: для рода *Postia* характерны аллантоидные споры, а у видов рода *Tyromyces* – споры от цилиндрических до почти шаровидных [5]. Важное физиологическое отличие между родами – тип гнили, который они вызывают: грибы рода *Postia* – бурую гниль, а виды рода *Tyromyces* – белую [6].

К роду *Postia* относят около 48 видов, из которых 24 встречаются в России; также отмечено 6 видов рода *Tyromyces* [5]. По нашим данным, в микобиоте Южно-

го Урала встречается 14 видов рода *Postia* и 5 видов рода *Tyromyces*.

Распространение большинства видов *Postia* приурочено к сосновым насаждениям разного генезиса. На крупных валевных стволах сосны достаточно часто встречаются *Postia caesia* (Schrad.) P. Karst., *P. fragilis* (Fr.) Jülich, *P. lateritia* Renvall, *P. leucomallella* (Murrill) Jülich, *P. septentrionalis* (Vampola) Renvall, *P. stiptica* (Pers.) Jülich. Значительно меньше видов встречено на валеже лиственных деревьев (*Postia simanii* (Pilát) Jülich обнаружен однократно на валеже h – на валеже *Acer platanoides*, *Tilia cordata*, *Ulmus laevis* в лесостепной зоне).

Некоторые виды способны заселять валежную древесину как лиственных, так и хвойных деревьев: *Postia hibernica* (Berk. & Broome) Jülich отмечена на валеже *Acer platanoides*, *Betula pendula*, *Pinus sylvestris*, *Ulmus laevis*; *Postia sericeomollis* (Romell) Jülich – на валеже *Acer platanoides*, *Pinus sylvestris*; *Postia undosa* (Peck) Jülich – на валеже *Betula pendula*, *Pinus sylvestris*; *Postia rennyi* (Berk. & Broome) Rajchenb. – на валеже *Betula pendula*, *Pinus sylvestris*.

Один из наиболее распространенных видов в регионе, встречающийся во многих районах в широколиственных лесах и в сосняках Бузулукского бора – *Postia tephroleuca* (Fr.) Jülich.

К числу редких видов для региона можно отнести еще один вид – *Postia guttulata* (Sacc.) Jülich (согласно современной номенклатуре, вид носит название *Calcipostia guttulata* (Sacc.) B.K. Cui, L.L. Shen & Y.C. Dai). Ее плодовые тела ежегодно массово отмечаются в конце сентября – начале октября в единственной локации в кривоствольном нагорном березняке в пределах Троицкого заказника Тюльганского района Оренбургской области.

Среди представителей рода *Tyromyces* есть широко распространенный вид *Tyromyces chioneus* (Fr.: Fr.) P. Karst., отмечавшийся на валежных стволах и крупных ветвях лиственных деревьев (вяз, дуб, клен, липа) преимущественно

но в лесостепной зоне. Прочие виды, также отмеченные на валеже лиственных, представлены в регионе единичными находками. Эти виды (*T. fissilis* (Berk. & M.A. Curtis) Donk., *T. fumidiceps* G.F. Atk., *T. kmetii* (Bres.) Bod. & Sing. занесены в региональную Красную книгу [7].

Еще один вид, который можно считать кандидатом для включения в региональный список редких видов грибов – *Tyromyces leucospongius* (Cooke & Harkn.) Jülich. Он был однократно обнаружен на валежной ветви *Pinus sylvestris* в Национальном парке «Бузулукский бор». Однако для определения природоохранного статуса этого вида пока недостаточны данные.

Многолетние исследования биоты ксилотрофных грибов в регионе позволяют предположить, что большая часть разнообразия видов родов *Postia* и *Tyromyces* уже выявлена; самые оптимистичные прогнозы [8] включают еще нахождение 2-3 видов на Южном Урале.

Список литературы

1. Сафонов М.А. Биоразнообразие растений и грибов: история и современные тенденции динамики // Экологическая среда и биоразнообразие Оренбуржья в XXI веке: прогноз изменений и стратегия выживания. – Оренбург: ООО ИПК «Университет», 2017. – С.70-95
2. Сафонов М.А. Географические закономерности распространения ксилотрофных грибов в Южном Приуралье (Оренбургская область) // Поволжский экологический журнал, №1, 2005.С.60-70.
3. Сафонов М.А., Маленкова А.С. Новые находки деструктивных грибов на древесине сосны в Южном Предуралье // Вестник Оренбургского Государственного Педагогического Университета. – Электронный научный журнал (Online). 2013. №4 (8). – С.27-33
4. Сафонов М.А. Влияние генезиса древостоев на биоту деструктивных грибов Национального парка «Бузулукский бор» // Поволжский экологический журнал. – 2015 – №.3 – С.321-329
5. Бондарцева М.А. Определитель грибов России: (порядок Афиллофоровые) / М.А. Бондарцева. – Л.: Наука, 1998 – Вып. 2 – 391 с.
6. Ryvarden L. The Polyporaceae of Europe / L. Ryvarden, R.L. Gilbertson. – Oslo: Fungi-flora, 1992–1994. – V. 1–2. – 684 p.
7. Красная книга Оренбургской области: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных, растений и грибов: официальное издание. Воронеж: ООО «Мир», 2019. 488 с.
8. Сафонов М.А. Прогностическая оценка биологического разнообразия грибов-макромицетов Оренбургского Приуралья // Матер. II междунар.научн.конф. «Про-странственно-временная динамика биоты и экосистем Арало-Каспийского бассейна», Оренбург, 9-13 октября 2017 г. – Оренбург: ИПК «Университет», 2017. С.91-94

СООБЩЕСТВА МИКСОМИЦЕТОВ ЗАПОВЕДНИКА «НУРГУШ» В ПЕРИОДЫ С АНОМАЛЬНЫМИ ПОГОДНЫМИ УСЛОВИЯМИ

Широких А.А.^{1,2}

¹ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого», Киров

²ФГБУ «Государственный природный заповедник «Нургуш», Киров

Глобальные климатические изменения сопровождаются изменениями биологического разнообразия организмов в биогеоценозах. Повышение температуры и недостаток влаги особенно влияют на видовой состав и структуру комплекса миксомицетов, поскольку эти организмы, в отличие от высших животных, не имеют возможности мигрировать в поисках благоприятных условий. Погодные факторы способствуют формированию определённого видового состава комплекса миксомицетов в биоценозе. Получить объективные данные о влиянии погодных факторов позволяет проведение исследований в пределах особо охраняемых природных территорий, к которым в Кировской области относится Государственный природный заповедник (ГПЗ)

«Нургуш». Заповедник расположен в Котельничском районе Кировской области, в пойме реки Вятки, и имеет площадь 5634 га.

Целью исследований являлось изучение влияния засушливого вегетационного периода 2021 года и последующей холодной весны 2022 года на видовой состав и структуру комплекса миксомицетов в лесных биоценозах липы (*Tilia cordata* Mill.) на территории ГПЗ «Нургуш».

Погодные условия летнего периода 2021 года отличались скудным количеством выпавших осадков и повышенной температурой в сравнении со средними показателями предыдущего периода исследований (табл.).

Таблица. Погодные условия летнего периода 2021 г на территории проведения исследований

Период наблюдений	t°C		t°C среднесуточная	Сумма осадков, мм
	день	ночь		
июнь-август 2018-2020 гг	20,6	13,7	17,2	198
июнь-август 2021 г	22,4	14,5	18,5	149

Согласно данным, приведённым на сайте «Архив Погоды» (<http://weatherarchive.ru/>), на территории Котельничского района за всё лето было 7 пасмурных дней с небольшими осадками и один дождливый день. Уровень воды в озерах заповедника снизился, а небольшие лужи, которые после половодья и схода снега обычно остаются наполненными водой в течении всего лета, высохли. Упавшие стволы деревьев, пни, листва и подстилка, которые обычно служат субстратом для многих видов миксомицетов, также подверглись иссушению.

В последнюю декаду августа 2021 года на территории заповедника маршрутным методом были обследованы 19 площадок с субстратами, представляющими собой поваленные и полуразложившиеся стволы деревьев, пни и ветки. На каждой площадке производился учёт спорофоров миксомицетов и были отобраны образцы субстратов для изучения в лабораторных условиях. Выявляемые виды миксомицетов идентифицировали по определителям (Новожилов, 1993; Гмошинский и др., 2021; Lado, 2001).

В результате маршрутных исследований было обнаружено всего три вида миксомицетов – *Hemitrichia serpulula*, *Metatrichia vesparia* (*Trichiaceae*) и *Stemonitopsis typhoides* (*Stemonitidaceae*). Все миксомицеты были найдены на местах высохших луж или на стволах упавших гниющих деревьев и валежнике. Представители семейства трихий отмечены под корой, отставшей от древесины, *S. typhoides* – на коре ствола поваленного дерева. Плодовые тела *H. serpulula* и *S. typhoides*, обнаруженные на гниющей древесине, были частично поражены грибом *Polycephalomyces tomentosus* (*Schrad.*) Seifert, а спорофоры *M. vesparia* на коре липы оказались открытыми и свободными от спор и капиллиция.

Образцы отобранных с разных площадок субстратов (№1-19) помещали в лаборатории во влажные камеры (ВК). Через месяц в трёх камерах было отмечено появление плазмодиев, а в 7 – спорофоров миксомицетов. Наиболее часто встречались виды рода *Arcyria* – *A. cinerea* и *A. incarnata*. В двух ВК выявлены спорофоры *Cribraria microcarpa* (*Cribrariaceae*) и *Comatricha nigra* (*Stemonitidaceae*).

Очевидно, что небольшое количество обнаруженных видов миксомицетов в полевых и лабораторных исследованиях обусловлено недостатком осадков и повышением температуры в летний период. В более благоприятные по погодным условиям периоды наблюдений (2018 -2020 гг) на территории заповедника регистрировалось до 29 видов миксомицетов, принадлежащих к 5 порядкам и 7 семействам (Широких, 2018). Большое количество упавших стволов деревьев и гниющей древесины на территории заповедника обеспечивают в типичные по погодным условиям годы формирование высокого видового разнообразия миксомицетов-ксилобионтов. Половина обнаруживаемых видов принадлежала к семействам *Arcyriaceae* и *Physaraceae*, представители которых обычно приурочены к гнилой древесине лиственных и хвойных пород, хорошо сохраняющих влагу. В сухое лето эти субстраты высохли, и представители этих таксонов в полевых условиях не обнаруживались.

Весна 2022 года в Кировской области выдалась сухой и холодной. Среднемесячная температура бесснежного периода в Котельничском районе не превышала 8°C, а влажность воздуха едва достигала 65%. На момент отбора

субстратных образцов (20-22 мая) дневная температура составила 3,2°C, при северном ветре 3-4 м/сек. В полевых условиях при осмотре субстратов не было выявлено ни одного спорофора миксомицетов. Доставленные в лабораторию образцы субстратов были помещены в 10 ВК. Через неделю инкубации в двух камерах были зарегистрированы спорофоры *A. cinerea*, а через две недели этот вид обнаружился практически во всех ВК, количество спорофоров при этом достигало около 70 шт. на камеру. На 15 суток с момента закладки в четырёх образцах были выявлены спорофоры *A. incarnata*. Спустя месяц после закладки ВК были зарегистрированы спорофоры *Physarum notabile*, *Stemonitopsis sp.* и *Perichaena corticalis*. В общей сложности за период наблюдения (2,5 месяца) во ВК были зарегистрированы спорофоры всего 5-ти видов миксомицетов.

Таким образом, в результате маршрутных и лабораторных исследований в августе 2021 г. в заповеднике «Нургуш» выявлено только 7 видов миксомицетов, принадлежащих к 4-м семействам (*Trichiaceae*, *Arcyriaceae*, *Cribrariaceae*, *Stemonitidaceae*), которые входят в состав трёх порядков – *Trichiales*, *Cribrariales* и *Stemonitidales*. Из выявленных видов спорофоры только 3-х видов были обнаружены непосредственно в природных условиях, а других 4 -х видов – в лаборатории. В образцах субстратов, собранных в мае 2022 года, были выявлены спорофоры 5-ти видов миксомицетов принадлежащие к 3 семействам (*Arcyriaceae*, *Stemonitidaceae*, *Physaraceae*). Абсолютно доминирующим видом по количеству выявленных в ВК спорофоров была *A. cinerea*. Этот вид в большом количестве регистрировался в образцах субстратов, собранных как в период продолжительной летней засухи, так и в холодный весенний период. Эти наблюдения позволяют считать *A. cinerea* эврибионтным видом, способным существовать в широком диапазоне природных условий окружающей среды.

Аномально засушливые погодные условия летнего периода 2021 г. и низкие температуры весны 2022 г. привели не только к резкому сокращению количества встречаемых в заповеднике видов миксомицетов, но и представителей таксонов с более высокими рангами – семейств (от 7 до 3-4) и порядков (от 5 до 3). Таким образом, несмотря на то, что миксомицеты имеют в жизненном цикле адаптивные к стрессовым факторам механизмы (образование спор, микроцист, склероциев), аномальные изменения температуры и количества осадков оказывают влияние на состав и структуру комплекса миксомицетов в лесных биоценозах.

Список литературы

1. Новожилов Ю.К. Класс Миксомицеты. СПб.: Наука, 1993. 288 с (Определитель грибов России: Отдел Слизевки: Вып. 1).
2. Гмошинский В.И., Дунаев Е.А., Киреева Н.И. Определитель миксомицетов Московского региона. М.: Издательство «Культурно-просветительского центра «Архэ», 2021. 388 с.
3. Lado C. Nomenmyx: A nomenclatural taxabase of Myxomycetes // Guadernos de trabajo de Flora Micologica Iberica. V. 16. Madrid, 2001. 219 p.
4. Широких А.А. Миксомицеты заповедника Нургуш. Киров, 2018. 95 с.

АФИЛЛОФОРОИДНЫЕ ГРИБЫ РЕСПУБЛИКИ ДАГЕСТАН: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Волобуев С.В.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

Республика Дагестан, расположенная в восточной части Северного Кавказа, в течение длительного времени оставалась малоизученным регионом в отношении биоразнообразия деревообитающих базидиальных макромицетов. Несмотря на высокий уровень выявленного видового богатства флоры и лишенобиоты, составляющий не менее 3400 видов сосудистых растений и 850 видов лишайников (Муртазалиев, 2016; Ismailov et al., 2019), число известных для региона видов афиллофороидных грибов до недавнего времени не превышало 100 (Hollós, 1902; Багдасарова, 1965; Бондарцева, Пармасто, 1986; Kõljalg, 1996; Ghobad-Nejhad et al., 2009; Винер, 2017).

Систематические исследования данной группы грибов были начаты в Республике Дагестан в 2018 году. Основное внимание было уделено обследованию лесных экосистем ООПТ, включая Дагестанский заповедник, национальный парк «Самурский», природный парк «Верхний Гуниб» и ряд других территорий.

Впервые для территории Тляратинского федерального государственного природного заказника (заповедник «Дагестанский») выявлен 61 вид афиллофороидных базидиомицетов, в том числе 36 видов оказались новыми для Дагестана, а 8 видов впервые были отмечены для Северного Кавказа. В общей сложности, с учетом литературных данных, к настоящему времени для Тляратинского заказника известно 98 видов афиллофороидных грибов. Всего на обследованной ООПТ отмечено 24,6% видов, связанных с древесиной *Quercus macranthera*, что подчеркивает значительный вклад дубняков, распространенных исключительно вдоль склонов южной экспозиции, в сохранение подходящих местообитаний для афиллофороидных грибов в Тляратинском заказнике (Volobuev, 2021a).

В низинных лиственных лесах Магарамкентского района Республики Дагестан на территории Самурского национального парка зарегистрировано 56 видов деревообитающих базидиомицетов, из них 26 видов оказались новыми для Дагестана и Северо-Восточного Кавказа (Volobuev, 2020). Установлено, что 48 видов (86%) афиллофороидных грибов, встречающихся в дубовых и грабовых лесах Самурского национального парка, распространены в широколиственных лесах Среднерусской возвышенности. Данное сходство видового состава низинных лиственных лесов дельты Самура и пойменных лиственных лесов Центральной Европы было показано ранее на примере эпифитных лишайников (Ismailov et al., 2017). Наши результаты подтверждают данную закономерность, и, вероятно, объясняются способностью некоторых видов ксилобионтных афиллофороидных грибов к смене древесной породы-хозяина в пределах одного семейства. Кроме того, на территории национального парка «Самурский» выявлено единственное на Кавказе местонахождение редкого в Европе вида трутовых грибов *Rhizoporia hyalina* (Volobuev, 2021b). Общее число известных для национального парка «Самурский» афиллофороидных грибов на данный момент составляет 95 видов.

Специальные исследования видового состава и экологических особенностей афиллофороидных грибов проводятся на территории плато Гуниб. Здесь зарегистрировано

73 вида трутовых грибов (Volobuev et al., 2021), включая местонахождения редких для Евразии таксонов – *Ceriporia torpida*, *Kneiffiella abdita*, *Sistotrema alboluteum* и других, а также вида *Auriporia aurulenta*, занесенного в Красную книгу Республики Дагестан (2020) и предложенного к включению в новое издание Красной книги РФ. Отдельное внимание было уделено изучению афиллофороидных грибов, ассоциированных с можжевельником продолговатым (*Juniperus oblonga*), в связи с выявлением ареалов видов-консоцтов данной древесной породы (Volobuev, Ivanushenko, 2020). Показано, что наибольшее число видов (14) отмечено в диапазоне высот 1700–1800 м н.у.м., при этом только два вида – *Lyomyces juniperi* и *Peniophora junipericola* – развиваются исключительно на можжевельнике.

По результатам обследования буковых лесов Предгорного Дагестана на основании морфологических и молекулярных данных был описан новый для науки вид пороидных грибов – *Meruliopsis faginea* (Crous et al., 2021), отмечены местонахождения охраняемого в регионе вида *Hericium coralloides* (Красная книга..., 2020) и ряда других.

Молекулярно-таксономическая ревизия родов *Odontia* и *Tomentella* позволила выявить второе в России местонахождение вида *Odontia duemmeri*, а также новые для Республики Дагестан и Северо-Восточного Кавказа виды томентеллоидных грибов (Волобуев и др., 2019; Ivanushenko, Volobuev, 2020). Таким образом, общее число известных для региона видов афиллофороидных грибов за период 2018–2021 гг. увеличилось более чем в 2 раза.

Дальнейшие исследования деревообитающих базидиальных макромицетов в Республике Дагестан, несомненно, позволят расширить выявленное видовое богатство данной группы грибов, как за счёт обследования новых по природным условиям территорий (например, лесов высокогорного Дагестана), так и в результате использования молекулярно-генетических методов исследования. Актуальным является продолжение инвентаризации видового состава грибов на ранее обследованных территориях с целью выявления различающихся по фенологии плодоношения видов.

Исследования выполнены в рамках государственного задания БИН РАН №122011900033-4 «Биоразнообразие, экология и структурно-функциональные особенности грибов и грибообразных протистов», а также были частично поддержаны Российским научным фондом, проект №19-77-00085.

Список литературы

1. Муртазалиев Р.А. Анализ распределения видов флоры Дагестана. Ботанический журнал. 2016. 101(9): 1056–1074.
2. Ismailov A.B., Urbanavichus G.P., Vondrak J. New lichenized fungi for Russia from Dagestan (East Caucasus). Folia Cryptog. Estonica. 2019. 56: 7–10. <https://doi.org/10.12697/fce.2019.56.02>
3. Hollós L. Adatok a Kaukázus gombáinak ismeretéhez. Növénytani Közlemények. 1902. 1(4): 147–155.

4. Багдасарова А.Ф. Грибы лианового леса дельты реки Самур. Ботаника, физиология растений и растениеводства. Махачкала: Даг. кн. изд., 1965. С. 64–70.
5. Бондарцева М.А., Пармасто Э.Х. Определитель грибов СССР. Порядок афил-лофоровые; Вып. 1. Семейства гименохетовые, лахнокладиевые, кониофоровые, щелелистниковые. Отв. ред. М.В. Горленко. Л.: Наука, 1986. 192 с.
6. Kõljalg U. Tomentella (Basidiomycota) and related genera in temperate Eurasia. Synopsis Fungorum. V. 9. Fungiflora, Oslo, 1996.
7. Ghobad-Nejhad M., Hallenberg N., Parmasto E., Kotiranta H. A first annotated checklist of corticioid and polypore basidiomycetes of the Caucasus region. Mycologia Balcanica. 2009. 6(3): 123–168. <https://doi.org/10.5281/zenodo.2550071>
8. Винер И.А. Новые находки трутовых и кортициоидных грибов в Дагестане. Труды государственного природного заповедника “Дагестанский”. Вып. 13. Махачкала: Алеф, 2017. С. 13–19.
9. Volobuev S.V. A contribution to the aphylloroid fungi (Basidiomycota) of the Tlyaratinsky protected area (Dagestan, Russia). Микология и фитопатология. 2021a. 55(5): 311–317. <https://doi.org/10.31857/S0026364821050111>
10. Volobuev S.V. Aphylloroid fungi of the “Samurskiy” national park (Dagestan). Микология и фитопатология. 2020. 54(4): 235–243. <https://doi.org/10.31857/S002636482004011X>
11. Ismailov A., Urbanavichus G., Vondrák J., Pouska V. An old-growth forest at the Caspian Sea coast is similar in epiphytic lichens to lowland deciduous forests in Central Europe. Herzogia. 2017. 30: 103–125.
12. Volobuev S.V. Antrodia hyalina (Polyporales, Basidiomycota), new species to the Caucasus. Ботанический вестник Северного Кавказа. 2021b. 1: 28–34. https://doi.org/10.33580/24092444_2021_1_28
13. Volobuev S.V., Ivanushenko Yu.Yu., Ismailov A.B. Diversity and ecology of poroid fungi (Agaricomycetes, Basidiomycota) of the Gunib Plateau, Dagestan. Юг России: экология, развитие. 2021. 16(3): 68–80. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2021-3-68-80>
14. Красная книга Республики Дагестан. Махачкала: Типография ИП Джамалуди-нов М.А., 2020. 800 с.
15. Volobuev S.V., Ivanushenko Yu.Yu. Aphylloroid fungi (Basidiomycota) on juniper on the Gunib Plateau, innermountain Dagestan. Czech Mycology. 2020. 72(1): 83–93. <https://doi.org/10.33585/cmy.72106>
16. Crous P.W., Cowan D.A., Maggs-Kölling G. et al. Fungal Planet description sheets: 1182–1283. Persoonia. 2021. 46: 313–528. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2021.46.11>
17. Волобуев С.В., Иванушенко Ю.Ю., Исмаилов А.Б. Новые для Дагестана виды рода Tomentella (Thelephorales, Basidiomycota). Юг России: экология, развитие. 2019. 14(2): 172–179. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2019-2-172-179>
18. Ivanushenko Yu.Yu., Volobuev S.V. Species of Odontia and Tomentella (Thelephorales, Basidiomycota) new to Dagestan, Russia. Юг России: экология, развитие. 2020. 15(3): 165–173. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2020-3-165-173>

МАКРОМИЦЕТЫ ЛЕСОПАРКА ТЕОДОРА КРОНЕ Г. КАЛИНИНГРАДА

Володина А. А.

Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград

В результате исследований, проведённых в парках города Калининграда осенью 2019 г. было выявлено 254 вида макромицетов, относящихся к 13 порядкам, 50 семействам и 115 родам. Учитывая данные предыдущих лет исследований в Ботаническом саду и Центральном парке, всего в городе выявлено 309 видов макромицетов, относящихся к 51 семейству и 127 родам. Лесопарк имени Теодора Кроне находится в западной части г. Калининграда на участке с холмистой местностью и руслом ручья в глубокой ложине с крутыми склонами. Благодаря деятельности Теодора Людвиг Клеменса Кроне в начале XX века эта территория, которая представляла собой пригородный лес, избежала застройки и получила статус городского леса. Лесопарк используется жителями в целях рекреации, спортивных занятий и прогулок с домашними животными. Парк является объектом культурного наследия муниципального значения. Вся дорожно-тропиночная сеть парка грунтовая. По составу древостоя участок представляет собой широколиственный лес с примесью хвойных пород. На землях парка встречаются все виды деревьев, произрастающие естественно в лесах области, а также интродуценты. Преобладают широколиственные породы *Carpinus betulus*, *Quercus robur*, *Fagus sylvatica*, *Tilia cordata*. Из хвойных деревьев встречаются *Pinus sylvestris*, *Picea abies*. Вследствие высокого проективного покрытия деревьев в лесопарке

слабо развита травянистая растительность под пологом деревьев, что приводит к эрозии почвы легко-суглинистого типа на крутых склонах и образованию оврагов. Слабое развитие травяного покрова также отражается на видовом богатстве и обилии грибов.

Исследования микобиоты парка Теодора Кроне проводятся с 2019 г, когда было обнаружено всего 38 видов. Это в основном разовые посещения в конце лета и осенью в течение трех лет. Собранные образцы хранятся гербарии (KLGU) в коллекции грибов в Балтийском федеральном университете им. И. Канта. В результате трехлетних наблюдений в парке обнаружены 82 вида макромицетов, преимущественно относящихся к базидиальным грибам. Велика доля грибов, относящихся к микоризообразователям (29,3%) и ксилотрофам (28%). Микоризообразователи по большей части относятся к семействам Russulaceae и Boletaceae. Большая доля грибов разрушителей древесины связана с возрастом парка и его неухоженностью. Длительное время в лесопарке не проводилось никаких работ, связанных с наблюдением за состоянием деревьев. Гумусовые сапротрофы составляют 22%. Подстилочных сапротрофов обнаружено всего 16%, что объясняется, как недостаточной изученностью микобиоты в осенний период, когда массово плодоносят виды этой группы, так и со слабой развитой лесной подстилкой в этом парке. Только в световых

окна можно увидеть развитый травяной покров из злаков и разнотравья. В тенистых участках (под грабами и буками) на почве к середине лета отсутствует какая-либо травянистая растительность или ее обилие, представленное теневыносливыми видами (*Milium effusum*, *Galeobdolon luteum*, *Stellaria holostea*), незначительно.

Уменьшению естественного разнообразия травянистых растений и площади почвы, закрепленной растительностью, также способствует распространение инвазивного вида *Impatiens glandulifera*, образующего с каждым годом все большие заросли, которые к зиме отмирают, оставляя почву оголенной, способствуя ее эрозии. Малое количество видов грибов связано с моховым покровом – 2% и с растительным опадом – 1%.

В лесопарке можно выделить по меньшей мере два биотопа – это открытое пространство лесной поляны с редкими соснами на спортивной площадке и широколиственный лес. На поляне встречаются виды суходольных лугов (*Lycoperdon pratense*, *Marasmius oreades* и др.) и впервые в регионе обнаруженный гриб *Aspropaxillus giganteus*. Под буками и дубами вблизи жилых домов растет редко встречающийся в регионе гриб *Neoboletus erythropus*.

В группу обычных грибов парка входят *Amanita muscaria*, *Auriscalpium vulgare*, *Boletus badius*, *Coprinellus*

micaceus, *Ganoderma applanatum*, *Gymnopus dryophyllus*, *Laccaria amethystina*, *Rhodocollybia butyracea*, *Scleroderma verrucosum*, *Paxillus involutus*, *Xerocomellus chrysenteron*, *Lactarius quietus*, *Russula cyanoxantha*.

В списке грибов, обнаруженных в 2019-2021 гг. в лесопарке им. Теодора Кроне большее число видов относится к порядку трихоломовых (*Tricholomatales*) – 23 вида (28%), на втором месте представители порядка агариковых (*Agaricales*) – 22%. Намного меньше видов обнаружено в других крупных порядках лесной зоны *Russulales* – 13,4%, *Boletales* – 12%, *Cortinariales* – 7,3%. На данном этапе исследований наибольшее количество видов отмечено в семействах *Russulaceae* (9), *Boletaceae* (6), *Omphalotaceae* (6), *Tricholomataceae* (6), *Mycenaceae* (5), *Agaricaceae* (5), *Amanitaceae* (4). В других 24 семействах по 1-2 вида. Предположительно, еще много находок будет в семействах *Russulaceae*, *Inocybaceae*, *Entolomataceae*. Во многих других парках города, за исключением Ботанического сада, видовое разнообразие и обилие грибов мало в силу преобладания в них древесных интродуцентов и высокой антропогенной нагрузки.

Глава 5.

Экология грибов

doi: 10.14427/cmr.2022.ix.05

ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОНСОРЦИУМОВ МИКРООРГАНИЗМОВ И ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ В ВОССТАНОВЛЕНИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ЗЕМЕЛЬ

Бухарина И.Л., Исупова А.А., Лямзин В.И., Лебедева М.А.
Удмуртский государственный университет, Ижевск

В природных условиях с непостоянством климатических и физико-химических параметров, а также наличием факторов, ингибирующих рост микроорганизмов, продолжительность утилизации нефтяных углеводородов значительно возрастает и требует многократного внесения биопрепаратов и минеральных удобрений. Существует проблема узкого диапазона применения углеводородокисляющих микроорганизмов при проведении биологического этапа рекультивации нефтезагрязненных почв. Появляется необходимость в применении биологических препаратов совместно с популяциями других биологических агентов, которые способны не только поддерживать необходимый микроэлементный состав в очищаемой почве, но и полностью формировать почвенную экосистему. Такими биологическими агентами являются, к примеру, микроскопические эндотрофные грибы, которые способны усиливать роль нефтеразрушающих микроорганизмов и повышать устойчивость растений при проведении биологического этапа рекультивации земель. Микроскопические эндотрофные грибы создают благоприятную среду для углеводородокисляющих микроорганизмов, поддерживая оптимальное значение pH почвенного раствора, уровень влажности почвы, эффективное использование минеральных элементов [1-5].

Были проведены исследования по выявлению пределов устойчивости к действию различных концентраций нефти у ряда изолятов (культур) микроскопических эндотрофных грибов, выделенных из урбанопочв с высоким уровнем загрязнения [6-8]. Микромицеты высаживали на субстраты с внесением нефти в различных концентрациях, наблюдали за динамикой роста и размерами колоний мицелия грибов. Оба микромицета способны выживать при высоких концентрациях нефти (до 10%) в субстрате, но они используют разные механизмы для выживания. *Fusarium equiseti* в начале эксперимента отличался активным ростом, далее наблюдалось снижение скорости роста колоний. *Cylindrocarpon magnusianum*, наоборот, в начале эксперимента не отличался активным ростом (период адаптации), а со второй недели эксперимента проявлял высокие показатели роста колоний мицелия. Таким образом, можно отметить видоспецифические стратегии адаптации грибов в условиях нефтяного загрязнения, которые показали, что оба вида можно использовать в технологиях биорекультивации, но при разных условиях. *F. equiseti* целесообразно использовать при низких концентрациях нефти в субстрате и при необходимости быстрого восстановления почвы. *C. magnusianum* рекомендовано использовать при длительном нефтяном загрязнении и высоких концентрациях нефти.

Далее в условиях лабораторных экспериментов было исследовано влияние сочетания биопрепарата «Микрозим Петро Трит», содержащего ряд бактерий деструкторов нефти, и микроскопических грибов на эффективность разложения нефти. Опыт включал ряд вариантов: биопрепарат «Микрозим Петро Трит» (Контроль); фиторемедиант (мятлик луговой - *Poa pratensis* L.); фиторемедиант + микроскопические грибы; «Микрозим Петро Трит» + фиторемедиант + микроскопические грибы (консорциум). Эксперимент проводился на двух типах почв по гранулометрическому составу: супесь и средние суглинки.

Продолжительность эксперимента составила 6 месяцев. Эксперимент был проведен в моделируемых условиях климатической камеры BINDERKBWF: дневной режим: температура +23°C, максимальное освещение 15000 лк и вентиляция; ночной режим: температура +18°C, вентиляция и отсутствие освещения. Вносили согласно схеме эксперимента «Микрозим Петро Трит» в виде водной суспензии из расчета 1 и 1.5 г на 1 кг почвы в вариантах 5 и 10% загрязнения нефтью соответственно. Спустя 10 дней в соответствующие схеме варианты опыта были посеяны семена мятлика лугового (норма высева 10–15 г/м²). Через 10 дней после прорастания семян в соответствующие варианты опыта была внесена грибная суспензия (25 мл на 1 делянку). Для производства суспензии («Способ приготовления и внесения микромицетного биопрепарата для повышения устойчивости растений», патент на изобретение 2722206 С1, 28.05.2020) [9], были использованы культуры эндотрофных микромицетов *F. equiseti* и *C. magnusianum*.

По завершении эксперимента был проведен анализ почв на содержание нефти (ПНД Ф 16.1:2.2.22-98) [10-12], а также инвертазной активности почв (метод В.Ф. Купреевича, Т.А. Щербаковой). Обработку результатов эксперимента проводили с использованием статистического пакета Statistica 13.0.

Результаты исследований показали наибольшую эффективность использования в консорциуме *Cylindrocarpon magnusianum*. По окончании эксперимента установлено, что в вариантах с 5% внесением нефти (средние суглинки), ее содержание составило: в Контроле - 9900±1500 мг/кг; в вариантах фиторемедиант и фиторемедиант + грибы - 13800±3500 и 10100±2500 мг/кг соответственно, что находится в рамках статистической погрешности. Достоверно эффективные различия получены при использовании полного консорциума ремедиантов и составило 5400±1600 мг/кг. Также достоверная разница результатов установлена и при 10% загрязнении, причем именно при использовании консорциума ремедиантов (Контроль - 20300±2100 и полный консорциум - 14300±2800). На супесчаных почвах

также зафиксировано достоверное снижение содержания нефти в варианте полного консорциума по сравнению с контролем (11000 ± 2800 и 7000 ± 1300 соответственно), но лишь при моделировании 5% загрязнения почв нефтью.

Также оценивали показатель биологической (инвертазной) активности почв. На среднесуглинистой почве при 5 и 10 % содержании нефти показатель инвертазной активности почв превышал контроль (11.5 ± 1.4 , доверительный интервал среднего значения $10.1 \dots 12.9$ и 13.5 ± 1.1 доверительный интервал $12.4 \dots 14.6$ соответственно) в варианте фиторемедиант + грибы (18.2 ± 0.7 доверительный интервал $17.5 \dots 18.9$ и 21.1 ± 0.8 доверительный интервал $20.3 \dots 21.9$ соответственно) и максимально - в варианте полного консорциума биоремедиантов (19.9 ± 0.7 , доверительный интервал $19.2 \dots 20.6$ и 22.3 ± 0.9 , доверительный интервал $21.4 \dots 23.2$ соответственно при 5 и 10% загрязнении нефтью). На супесчаных почвах достоверное увеличение биологической активности почв по сравнению с контролем установлено при 5% внесении нефти в варианте в использования полного консорциума ремедиантов (27.6 ± 2.4 , доверительный интервал $25.2 \dots 30.0$, где контроль 21.0 ± 3.3 , доверительный интервал $17.7 \dots 24.3$)

Данные результаты позволяют констатировать эффективность совместного действия биопрепарата и микроскопических грибов в очистке и восстановлении нефтезагрязненных земель.

Список литературы

1. Лямзин В.И., Бухарина И.Л., Здобяхина О.В., Исламова Н.А. и др. Исследование эффективности совместного применения биопрепарата нефтедеструктора и эндотрофных грибов на этапе биологического восстановления нефтезагрязненных земель // Астраханский вестник экологического образования. – 2018. – № 3 (45). – С. 94-98.
2. Domka A. M. Are Fungal Endophytes Merely Mycorrhizal Copycats? The Role of Fungal Endophytes in the Adaptation of Plants to Metal Toxicity [Электронный ресурс] / A. M. Domka, P. Rozpadek, K. Turnau // *Frontiers in Microbiology*. – Vol. 10. – 2019.
3. Halleen F., Schroers H.J., Groenewald J.Z., Crous P.W. Novel species of *Cylindrocarpon* (*Neonectria*) and *Campylocarpon* gen. nov. associated with black foot disease of grapevines (*Vitis* spp.) // *Studies in Mycology*. – Vol. 50. – 2004. – P.431–455.
4. Hou L., Yu J., Zhao L. and He X. Dark Septate Endophytes Improve the Growth and the Tolerance of *Medicago sativa* and *Ammopiathus mongolicus* Under Cadmium Stress // *Frontiers in Microbiology*. – Vol. 10. – 2020. – P. 1-17.
5. Maciá-Vicente J.G., Jansson H.-B., Talbot N.J., Lopez-Llorca L.V. Real-time PCR quantification and live-cell imaging of endophytic colonization of barley (*Hordeum vulgare*) roots by *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia* // *New Phytologist*. – Vol. 182 (1). – 2009. – P. 213-228.
6. Бухарина И.Л., Исламова Н.А., Жавад А.Ф., Абдуллах М.Р. и др. Влияние инокулята *Cylindrocarpon magnusianum* на формирование адаптивных реакций растений к стрессовым факторам // *Аграрная Россия*. – 2019. – № 12. – С. 26-32.
7. Bukharina I.L., Islamova N.A., Lebedeva M.A. Species of fungi in the root system of woody plants in urban plantations // *The Fourth International Scientific Conference Ecology and Geography of Plants and Plant Communities. Ser. "KnE Life Sciences"* – 2018. – P. 49-55.
8. Bukharina I., Franken P., Kamasheva A., Vedernikov K. and Islamova N. About the species composition of microscopic fungi in soils and woody plant roots in urban environment // *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. – Vol.7 (4). – 2016. – P. 1386-1394.
9. Бухарина И.Л., Исламова Н.А. Патент на изобретение 2722206 С1, 28.05.2020. «Способ приготовления и внесения грибного биопрепарата для повышения устойчивости растений».
10. ГОСТ Р 54039-2010. Экспресс-метод спектроскопии в ближней инфракрасной области для определения содержания нефтепродуктов.
11. Другов Ю.С., Родин А.А. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов практическое руководство. – 2000.
12. Рябов В.Д. Химия нефти и газа: учебное пособие. – М.: ИД «ФОРУМ». 2009. – С.336.

ГРИБНЫЕ ПАТОГЕНЫ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В ПАМЯТНИКЕ ПРИРОДЫ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ «РОЩА «ДУБКИ» (Г. ТАГАНРОГ)

Булгаков Т.С.

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук», Сочи

Роща «Дубки» в г. Таганрог является одной из старейших лесопосадок в Ростовской области на юге России. Её история восходит к Петру Великому, велевшему заложить в балке Черепаха дубовую рощу на момент основания Таганрога, и ко временам Екатерины II и Александра I [1]. В настоящее время она остается одним из крупнейших зеленых массивов Таганрога, старейшим лесопарком на западе Ростовской области и одним из любимейших мест отдыха таганрожцев. В северной части рощи находятся несколько старых дубов возрастом более 200 лет, два из которых имеют статус областных памятников природы [1]. Кроме дубов, образующих основной массив в северной части, на территории рощи произрастают

многие других деревья и кустарники, включая множество интродуцентов.

Однако состояние таких лесонасаждений, находящихся в неблагоприятных для древесных растений условиях степной зоны, зачастую зависит от развития в них вредителей и патогенов, которые нередко становятся решающим фактором существования растений-хозяев. До настоящего времени не было работ, посвященных изучению грибных патогенов рощи «Дубки», в связи с этим нами в 2022 г. было проведено фитопатологическое обследование для оценки разнообразия встречающихся в «Дубках» фитопатогенных грибов, их распределения по растениям-хозяевам и вредоносности.

Несмотря на то, что в целом можно констатировать относительно хорошее состояние рощи, а парке даже по предварительным итогам выявлено множество фитопатогенных грибов, типичных для степной зоны юга России [2].

Среди всех обнаруженных фитопатогенных грибов можно выделить три основных группы: первая – возбудители стволовых и комлевых гнилей – преимущественно афиллофоридные базидиомицеты, а также вторая – возбудители некрозно-раковых заболеваний ветвей, и третья – возбудители болезней листьев, вызывающие пятнистости листьев, паршу, ржавчину и мучнистую росу – преимущественно микромицеты-аскомицеты.

В силу наличия большого числа возрастных деревьев возбудители стволовых и комлевых гнилей представлены в «Дубках» остаточным большим для степного региона числом видов. Из числа возбудителей стволовых гнилей дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) отмечены специализированные патогены: дуболюбивый трутовик *Inocutis dryophila* (Berk.) Fiasson & Niemelä, ложный дубовый трутовик *Fomitiporia robusta* (P. Karst.) Fiasson & Niemelä и дубовая губка *Daedalea quercina* (L.) Pers. На остальных деревьях обнаружены преимущественно раневые паразиты, среди которых наибольшее значение имеют: ложный трутовик *Phellinus igniarius* (L.) Quél. – на *Populus alba* L. и *Salix babylonica* L.; чешуйчатый трутовик *Cerrioporus squamosus* (Huds.) Quél. – на *Acer negundo* L., *A. platanoides* L., *Aesculus hippocastanum* L. и *Ulmus pumila* L.; серно-желтый трутовик *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill на видах *Fraxinus*, *Robinia*, *Gleditsia*, *Populus* и *Salix*; зимний гриб *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer – на *Fraxinus excelsior* L., *F. pennsylvanica* Marshall и *Robinia pseudoacacia* L.; также выявлены такие раневые паразиты, как *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst. и *Chondrostereum purpureum* (Pers.) Pouzar на *Acer negundo* L., *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. и *Trametes versicolor* (L.) Lloyd – на *Acer platanoides* L., *A. negundo* L., *Fraxinus excelsior* L. и *F. pennsylvanica* Marshall, а также на *Schizophyllum commune* Fr., отмеченный почти на всех видах деревьев. Их числа возбудителей комлевых гнилей найден трутовик плоский *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat., вызывавший комлевые гнили у многих деревьев, преимущественно видов *Fraxinus*, *Populus* и *Quercus*. Отметим, что в целом такой видовой состав возбудителей гнилей древесины довольно характерен для региона [3].

На ветвях дуба отмечены возбудители некрозов *Colpoma quercinum* (Pers.) Wallr., *Coryneum umbonatum* Nees и *Diatrypella quercina* (Pers.) Cooke] (Pers.) Cooke; на листьях – возбудитель мучнистой росы *Erysiphe alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam. На ясене обыкновенном (*Fraxinus excelsior* L.) выявлены возбудители некроза ветвей – *Hysterographium fraxini* (Pers.) De Not., бурой пятнистости листьев *Passalora fraxini* (DC.) Arx и мучнистой росы *Phyllactinia fraxini* (DC.) Fuss., а на ясене пенсильванском (*F. pennsylvanica* Marshall) – серой пятнистости листьев *Acervuloseptoria fraxini* Crous & Bulgakov и азиатской мучнистой росы *Erysiphe salmonii* (Syd. & P. Syd.) U. Braun & S. Takam. – последний вид лишь недавно распространился на юге России [4] и прилегающей территории Донецкой Народной Республики [5]. На ветвях белого тополя (*Populus alba* L.)

выявлены микромицеты-возбудители ржавчины *Melampsora laricis-tremulae* Kleb., пятнистости листьев *Septoria candida* (Fuckel) Sacc. и парши *Venturia tremulae* Aderh. var. *populi-albae* M. Morelet, а на ветвях отмечены возбудители некрозов *Cryptosphaeria ligniota* (Fr.) Auersw., *Plagiostoma populinum* (Fuckel) L.C. Mejía и *Cytospora paratranslucens* Norphanph., Bulgakov, T.C. Wen & K.D. Hyde. На листьях тополя канадского (*P. × canadensis*) отмечены возбудители мучнистой росы *Erysiphe adunca* (Wallr.) Fr., а также пятнистости *Sphaerulina frondicola* (Fr.) Verkley, *Quaed-vlieg & Crous* и деформации *Taphrina populina* (Fr.) Fr. На иве вавилонской (*Salix babylonica* L.) на ветвях отмечен комплекс возбудителей некрозов *Cytospora salicacearum* Norphanph., Bulgakov, T.C. Wen & K.D. Hyde, *Cytospora salicicola* C. Norphanph., Bulgakov & K.D. Hyde и *Drepanopeziza sphaerioides* (Pers.) Höhn., а на стволах – возбудитель стволовой гнили *Phellinus igniarius* (L.) Quél. На ветвях клена ясенелистного (*Acer negundo* L.) отмечены малоизвестные патогены, вызывающие массовое отмирание ветвей: *Dothidotthia negundinicola* (Crous & Akulov) Senwana, Wanas., Bulgakov, Phookamsak & K.D. Hyde, *Neodidymelliopsis negundinis* Manawasinghe, Bulgakov & K.D. Hyde и *Phaeobotryon negundinis* Daranagama, Bulgakov & K.D. Hyde, на листьях – мучнистая роса *Sawadaea bicornis* (Wallr.) Miyabe и пятнистость *Sphaerulina neoaceris* Crous & Bulgakov, а на стволах – возбудители стволовых гнилей *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst. и *Cerrioporus squamosus* (Huds.) Quél. На *Acer platanoides* L. зафиксировано развитие возбудителя черной пятнистости *Rhytisma acerinum* (Pers.) Fr. и мучнистой росы *Sawadaea tulasnei* (Fuckel) Homma, а на листьях белого (*A. pseudoplatanus* L.) и полевого кленов (*A. campestre* L.) – другой мучнисторосяный гриб – *Sawadaea bicornis* (Wallr.) Miyabe. На вязах (*Ulmus minor* Mill. и *U. pumila* L.) отмечены возбудители некрозов ветвей *Cytospora ulmicola* Norphanphoun, Bulgakov, T.C. Wen & K.D. Hyde и *Thyrostroma ulmicola* Senwana, Wanas., Bulgakov, Phookamsak & K.D. Hyde, а на листьях – возбудитель черной пятнистости *Dothidella ulmi* (C.-J. Duval) G. Winter.

На робиини лжеакациевой (*Robinia pseudoacacia* L.) найдены возбудители некрозов *Diaporthe oncostoma* (Duby) Fuckel, *Camarosporidiella robinicola* (Wijayaw., Camporesi & K.D. Hyde) Wijayaw., Camporesi & K.D. Hyde) Wijayaw., Wanas. & K.D. Hyde и *Thyrostroma robiniae* Senwana, Wanas., Bulgakov, Phookamsak & K.D. Hyde, а на листьях – возбудитель пятнистости *Phloeospora robiniae* (Lib.) Höhn. На софоре японской (*Styphonolobium japonicum* (L.) Schott) отмечен крайне вредоносный возбудитель некрозов ветвей – *Thyrostroma styphnolobii* Senwana, Wanas., Bulgakov, Phookamsak & K.D. Hyde, вызывающий массовое отмирание побегов в кроне. Каркас южный (*Celtis australis* L.) страдал от отмирания ветвей, вызванного *Thyrostroma celtidis* Senwana, Wanas., Bulgakov, Phookamsak & K.D. Hyde. Орех грецкий (*Juglans regia* L.) и орех черный (*J. nigra* L.) поражались возбудителем антракноза *Ophiognomonium leptostyla* (Fr.) Sogonov и белой пятнистости – *Pseudomicrostroma juglandis* (Berenger) T. Kij. & Aime, а также возбудителями некрозов ветвей – *Cytospora juglandina* Sacc. и *Nectria cinnanarina* (Tode) Fr., который был обычен и на ветвях конского каштана (*Aesculus hippocastanum* L.), на листьях

которого отмечен возбудитель охряной пятнистости *Phyllosticta paviae* Desm. На шелковице белой (*Morus alba* L.) на ветвях отмечен комплекс возбудителей некрозов: *Camarosporidiella moricola* (Chethana, Bulgakov & K.D. Hyde) Wanas. & K.D. Hyde, *Pseudosplanchnonema phorcioides* (I. Miyake) Chethana, Camporesi & K.D. Hyde и *Thyrostroma moricola* Senwana, Wanas., Bulgakov, Phookamsak & K.D. Hyde, а на листьях – возбудитель белой пятнистости *Neophloeospora maculans* (Berenger) Videira & Crous. На кустарниках обнаружены только возбудители некрозов побегов, пятнистостей листьев и мучнистой росы, а макромицеты не отмечены.

Список литературы

1. Назаренко И.В. Роща «Дубки» // Таганрог. Энциклопедия. Таганрог: Антон, 2008. С. 331. 2. Ребриев Ю.А., Русанов В.А., Булгаков Т.С., Светашева Т.Ю., Змитрович И.В., Попов Е.С. Микобиота аридных территорий юго-запада России. Ростов-на-Дону: Изд-во ЮФУ, 2012. 88 с.
2. Русанов В.А., Ребриев Ю.А., Булгаков Т.С. Макромицеты Ботанического сада Южного федерального университета // Труды Ботанического сада Южного федерального университета: монография. Вып. 3. / под ред. Т.В. Вардуни. Ростов-на-Дону; Таганрог: Издательство Южного федерального университета, 2018. С. 66–108.
3. Булгаков Т.С. Obligatно-паразитические фитопатогенные грибы и грибоподобные организмы на древесных растениях в Ботаническом саду Южного Федерального университета: первый аннотированный список // Труды Южного Федерального университета: сборник научных трудов. Вып. 6. Ростов-на-Дону-Таганрог: Изд-во Южного Федерального университета, 2021. С. 136–184.
4. Бондаренко-Борисова И.В., Булгаков Т.С. Дендротрофные мучнисторосые грибы (Erysiphaceae) Донецкой городской агломерации (Донецкая область) // Промышленная ботаника. 2019. Вып. 19, № 1. С. 34–46.

ДЕВЯТЬ ЛЕТ УЧЕТОВ МАКРОМИЦЕТОВ ВЕРХОВЫХ БОЛОТ НА ПОСТОЯННЫХ ПЛОЩАДКАХ: СТРУКТУРА СООБЩЕСТВА И БАРКОДИНГ ВЫЯВЛЕННЫХ ТАКСОНОВ

Филиппова Н.В., Рудыкина Е.А., Добрынина А.С.
Югорский государственный университет, Ханты-Мансийск

Введение

Верховые болота представляют собой специфичный тип экосистем, аккумулирующий значительный запас углерода планеты. Экосистемы этого типа распространены глобально, однако интенсивное использование торфа, лесоразведение и сельское хозяйство сократили их площади в большинстве регионов мира. Экология организмов, способных существовать в олиготрофной и кислой среде, специфична и видовой состав всех групп имеет специализации к уровню pH, обводненности субстрата и торфу [1-4].

Состав и структура сообщества микроорганизмов-деструкторов торфяной залежи достаточно хорошо изучен с количественной и качественной сторон. Большую роль в декомпозиции в верхних аэробных слоях залежи играют грибы, обладающие ферментативным аппаратом для разложения сложных структурных полимеров [5-7]. Видовой состав грибов торфяных болот глобально исчисляется сотнями видов из разных экологических и систематических групп. Структура сообщества всей экосистемы сложна и может состоять из множества парцелл: например, ксилотрофы на древесине, дрожжи, почвенные сапротрофы, микоризные симбионты, водные гифомицеты, сапротрофы опада и т.д. Одна из таких групп – наземные макромицеты – выделяется традиционно в рамках методического подхода к их изучению. Для описания этой группы используется непосредственное наблюдение плодовых тел, их регистрация или учет в зависимости от целей исследования. Систематически группа включает базидиомицеты из порядков *Agaricales*, *Boletales*,

некоторые *Polyporales* и некоторые аскомицеты (в основном, *Pezizales*).

В задачи настоящего исследования входило описание состава и структуры сообщества макромицетов верховых олиготрофных сфагновых болот на примере одного болотного массива «Мухрино» (одноименный стационар Югорского государственного университета, Ханты-Мансийск). Для описания количественных характеристик сообщества и его динамики был выбран метод постоянных учетных площадей и предприняты многолетние учеты. Получены достоверные данные (подтвержденные почти сотней проведенных учетов) о сообществе: наиболее полное выявление видового состава, относительное обилие отдельных таксонов в сообществе, урожайность плодоношения, фенология плодоношения, межгодовая динамика обилия плодоношения, пространственная структура сообщества и др. Наконец, проведен баркодинг (ITS регион ядерной ДНК) накопленной коллекции ваучерных образцов, что позволило приблизиться к изучению видового состава на молекулярном уровне.

Методы

Площадки для учета макромицетов заложены вдоль мостков научного полигона «Мухрино», тем самым исключая вытаптывание уязвимой поверхности болота во время регулярных учетов. Характер площадок следовал протоколу [8] – площадки круглой формы, каждая 5 м², на расстоянии 5 м друг от друга. Всего заложено 263 площадки на общей длине трансекта 1,5 км, общая площадь учета равна 1315 м². На каждой площадке проведено описание растительного покрова

и измерен уровень болотных вод. Метео-параметры измерялись непрерывно на метео-станции стационара «Мухрино» [9]. Учеты проводились один раз в неделю (первые шесть лет) и раз в две недели (последние 3 года) с 2014 года, в течении вегетационного сезона с мая по октябрь. На площадке визуальным методом учитывались все плодовые тела каждого таксона, данные учетов заносились в блокнот. Сложные таксоны отбирались в коллекцию Фунгария ЮГУ (<https://fungariumysu.org/fungarium/>) по стандартной методике коллекционирования макромицетов [10].

База данных учетов велась в ПО «Excel», структура таблицы создавалась с учетом стандарта Darwin Core (<https://dwc.tdwg.org/>). База данных доступна для поиска и скачивания через портал Global Biodiversity Information Facility (GBIF) в виде двух связанных таблиц (формат набора данных Sampling Event): в одной описаны параметры площадок, включая точные координаты каждой площадки, в другой перечень учтенных видов на каждой площадке [11]. Общее число записей в таблице Event составило около 25 000, в листе Occurrence около 7500. Большая часть записей в таблице Event являются пустыми площадками, на которых в определенную дату не было учтено ни одного таксона, таким образом фиксируется отсутствие плодоношения. База данных учетов опубликована в открытом доступе через GBIF [12]. Определение таксономической принадлежности по макро- и микро-морфологическим признакам проводили по флорам [13], статьям и монографиям по определенным таксонам.

Общее число образцов, отобранных за все годы в ходе учетов, составило около 500 сухих экзикатов. База данных коллекции макромицетов верховых болот была экспортирована на портал Биологической коллекции ЮГУ и доступна для поиска и скачивания данных этикеток и изображений (<http://bioportal.ugrasu.ru/bog-macro/>).

Для секвенирования отбирали по 2 или более образцов на один таксон, в зависимости от сложности таксона и потенциала выявления криптических видов, общее число образцов для секвенирования составило около 150. Выделение, ПЦР и секвенирование проводилось по стандартным протоколам, для баркодинга был выбран регион ITS с использованием праймеров ITS1F, ITS4 [14]. Полученные последовательности депонируются на порталах GeneBank и GBIF.

Результаты

Таксономический состав. В результате 9 лет выявления таксономического состава сообщества по морфологическим признакам определено 74 вида, однако молекулярно-генетические исследования сложных таксонов (*Cortinarius*, *Galerina* и др.) будут увеличивать список за счет криптических видов.

Количественная структура сообщества. В результате учетов было зарегистрировано около 7500 наблюдений видов в пределах одной площадки (без учета количества плодовых тел каждого вида на площадке). При этом, количество наблюдений на один вид различалось на 3 порядка среди таксонов: 34 таксона в количестве от 1 до 10 наблюдений, 25 таксонов от 11 до 100 наблюдений, 15 таксонов от 101 до 1021 наблюдений (сумма за все

9 лет). Таким образом, показана разная роль, которую играют виды в структуре сообщества, насколько можно (косвенно) судить по их плодоношению. В результате учета количества плодовых тел, была получена средняя урожайность таксонов, которая варьирует от 0,1 до 320 плодовых тел/1000м² в год для разных таксонов. Общая урожайность макромицетов верхового болота в среднем за 9 лет учетов составила около 1800 плодовых тел на 1000м² в год.

Фенология плодоношения. Показана фенологическая приуроченность плодоношения видов к определенному сезону: только 2 вида имеют ранне-летнее плодоношение (май-июнь), небольшая группа плодоносят в июне-июле, основное количество видов имеют плодоношение в августе-сентябре и небольшое число только в сентябре. После классификации по месяцам, получены такие значения: в мае отмечено плодоношение шести видов, в июне – 17, в июле – 31, в августе – 57, в сентябре – 59 видов (за все годы наблюдений). Урожайность плодоношения возрастает с мая (в среднем 40 плодовых тел/1000 м² за однократный учет) по сентябрь (в среднем 575 плодовых тел/1000 м²). При этом динамика пиков плодоношения может варьировать от года к году и периодически наблюдаются скачки плодоношения определенных видов в июне и в июле.

Межгодовая динамика плодоношения и обуславливающие ее параметры. Максимальная урожайность плодоношения на однократный учет различалась между годами до 4 раз (407 плодовых тел / 1000 м² в 2014 году и 1138 плодовых тел в 2016 году). Однако, все года показывают одинаковую тенденцию увеличения урожайности в несколько раз в сентябре. Анализы зависимости плодоношения от погодных условий на настоящий момент еще не проведены, однако по предварительным данным отрицательное влияние на плодоношение макромицетов верховых болот оказывают избыточные осадки и короткий осенний сезон (ранние заморозки), положительное – умеренная засуха и продолжительная осень.

Экологическая приуроченность. Среди таксонов с единичными наблюдениями, 12 являются лесными видами и очень редко попадают на верховое болото, в том числе с привнесенными субстратами. Остальные относятся к типичному сообществу верховых болот. Около 40% видов представлены эктомикоризными партнерами сосны и/или кедра (*Pinus sylvestris*, *P. sibirica*). Остальные являются сапротрофами, преимущественно на сфагнуме и/или торфе. Как сапротрофы, так и микоризные виды, в большинстве являются стенотопными и приурочены в своем обитании к верховым болотам (выводы на основе анализа литературных данных об экологии определенных таксонов и собственных наблюдениях). Меньшая часть видов встречается в других местообитаниях (в лесах, заболоченных лесах и пр.). Внутри верхового болота можно выделить два типа местообитаний с сильно различающимся видовым составом макромицетов: сообщества сосново-кустарничково-сфагновых ярмов, где обитают эктомикоризные макромицеты и сапротрофы на высоких кочках со сфагнумом бурым, и сообщества осоково-шейхцериево-сфагновых топей, где обитают только сапротрофы, причем приспособленные

к высокой влажности при высоко стоящем уровне болотных вод. Эти группы макромицетов хорошо выявляются при ординации или кластеризации количественных данных учетов на площадках. Предварительные данные баркодинга коллекции макромицетов верховых болот. В настоящее время проведен баркодинг половины запланированных образцов и получено 74 последовательности. Из 37 таксонов, определенных по морфологическим признакам, баркодинг показал несколько больше. Поиск ближайшего сходства в BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) показал высокое сходство с определенными видами в 30 случаях (в том числе 6 – с типовыми образцами), при этом морфологические таксоны подтверждались с помощью поиска ближайшего сходства в BLAST. Остальные таксоны относятся к сложным группам (*Cortinarius sect. Telamonia*, *Cortinarius sect. Dermocybe*, *Galerina*, *Мусена*, *Гимнопус*, *Гимнопилус*), молекулярно-генетическая классификация которых и базы данных последовательностей еще находятся в разработке. В таких группах баркодинг позволил выделить таксоны внутри сложно идентифицируемых морфо-видов. Например, морфологический *Cortinarius aff. bififormis* распался на три таксона: *C. armeniacus*, *C. bififormis/kaufmanianus*, *C. albovariegatus*; морфологический *Cortinarius aff. huronensis* – *C. davemallochii* и *C. bataillei*; морфологический *Cortinarius aff. glandicolor* – *C. glandicolor* и *C. coleoptera*. Продолжение работы по баркодингу и анализы полученных последовательностей позволят уточнить видовое разнообразие макромицетов верховых болот на молекулярно-генетическом уровне.

Список литературы

1. Artz R. 2013. Microbial community structure and carbon cycling in peatlands. In: Baird A. et al. (Eds) Carbon Cycling in Northern Peatlands. v. 184. John Wiley & Sons, Washington, D.C. P. 111–129.
2. Myers B., Webster K.L., McLaughlin J.W., Basiliko N. 2012. Microbial activity across a boreal peatland nutrient gradient: the role of fungi and bacteria. *Wetlands Ecological Management* 20, 77–88, <https://doi.org/10.1007/s11273-011-9242-2>.
3. Rydin H., Jørgensen J.K., Hooijer A. 2006. *The biology of peatlands*. Oxford University Press, New York. 343 p.
4. Чернов И.Ю. (Ed.). 2013. Функционирование микробных комплексов в верховых торфяниках – анализ причин медленной деструкции торфа. Товарищество научных изданий КМК, М. 128 с.
5. Thormann M. 2006. The Role of Fungi in Boreal Peatlands. In: Wieder R.K., et al. (Eds.), *Boreal Peatland Ecosystems, Ecological Studies*. Springer Berlin Heidelberg, P. 101–123.
6. Thormann M.N., Rice A.V. 2007. Fungi from peatlands. *Fungal diversity* 24, 241–299.
7. Головченко А.В., Кураков А.В., Семенова Т.А., Звягинцев Д.Г. 2013. Обилие, разнообразие, жизнеспособность и факториальная экология грибов в торфяниках. *Почвоведение* 1, 80–97.
8. Lodge D.J., Ammirati J.F., O'Dell T.E. et al. 2004. Terrestrial and lignicolous macrofungi. In: Mueller G.M. et al. (Eds). *Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods*. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Boston. P. 127–172.
9. Dyukarev E., Filippova N., Karpov D., et al. 2021. Hydrometeorological dataset of West Siberian boreal peatland: a 10-year record from the Mukhrino field station. *Earth Syst. Sci. Data*, 13, 2595–2605, <https://doi.org/10.5194/essd-13-2595-2021>.
10. Wu Q., Thiers B., Pfister D. 2004. Preparation, preservation, and use of fungal specimens in herbaria. In: Mueller G.M. et al. (Eds). *Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods*. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Boston. P. 23–36.
11. Filippova N. 2021. Plot-based observations of macrofungi in raised bogs in Western Siberia (2014–2020). Version 1.27. Yugra State University Biological Collection (YSU BC). Sampling event dataset <https://doi.org/10.15468/e9g5ri> accessed via GBIF.org on 2021-12-03.
12. Filippova N. 2022. Plot-based observations of macrofungi in raised bogs in Western Siberia (2014–2021). Version 1.31. Yugra State University Biological Collection (YSU BC). Sampling event dataset <https://doi.org/10.15468/e9g5ri> accessed via GBIF.org on 2022-08-21.
13. Hansen L., Knudsen H. (Eds.) 2018. *Funga Nordica. Nordsvamp: Denmark*. V. 1, 2. 1083 p.
14. Gardes M., Bruns T. 2008. ITS Primers with enhanced specificity for Basidiomycetes – Application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 2, 113–118, 10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x.

ВИДОВОЙ СОСТАВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ ХВОИ И ПОБЕГОВ СОСНЫ В ГОРОДСКИХ ЗЕЛЕННЫХ НАСАЖДЕНИЯХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Головченко Л.А.¹, Дишук Н.Г.¹, Пантелеев С.В.²

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

²Институт леса НАН Беларуси, г. Гомель, Республики Беларусь

Видовой состав возбудителей болезней сосны составляют как высоко опасные виды, способные вызывать усыхание и отмирание растений, так и умеренно и мало опасные. Однако в последние десятилетия в Республике Беларусь и в соседних странах отмечено проникновение и распространение инвазивных фитопатогенов, возрастание вредности возбудителей, не имевших ранее хозяйственной значимости [1, 2]. Сведения о значительном числе бо-

лей хвои и побегов сосны в Беларуси долгое время оставались фрагментарными, целенаправленное их изучение начато недавно [3, 4].

В период 2016–2022 гг. сотрудниками лаборатории защиты растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси проведено обследование аборигенного (*Pinus sylvestris*) и интродуцированных видов сосны на урбанизированных территориях республики: в зеленых насаждениях

Минска, областных и районных центров. Идентификацию возбудителей болезней проводили по общепринятым в фитопатологии и микологии методикам, верификацию – методами метагеномного анализа и секвенирования (в лаборатории геномных исследований и биоинформатики Института леса НАН Беларуси). В данной работе приведены краткие результаты проведенного обследования.

Видовое разнообразие сосен на урбанизированных территориях республики невелико. В основном, это старые экземпляры сосны обыкновенной в парках, скверах, улицах, сбор образцов хвой и побегов с которых крайне затруднителен, а также отдельные, относительно молодые, экземпляры интродуцированных видов сосен и группы из них на территориях около администраций, бизнес-центров и т.п. В результате обработки собранного микологического материала выявлены 12 видов микромицетов: *Lecanosticta acicola* (Thüm.) Syd. (на *Pinus nigra*), *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko & B. Sutton. (на *P. mugo*, *P. nigra*), *Gremmeniella abietina* (Lagerb.) M. Morelet. (на *P. mugo*, *Pinus* sp.), *Lophodermium pinastri* (Schrad.) Chevall. (на *P. mugo*, *P. nigra*, *P. sylvestris*), *Cyclaneusma minus* (Butin) DiCosmo, Peredo & Minter. (на *P. mugo*, *P. nigra*), *Truncatella hartigii* (Tubeu) Steyaert. (на *Pinus* sp.), *Pestalotiopsis funerea* (Desm.) Steyaert (на *P. mugo*), *Neocatenulostroma germanicum* (Crous & U. Braun) Quaedvl. & Crous. (на *P. mugo*, *P. nigra*), *Cladosporium* sp. (на *Pinus nigra*), *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (на *P. nigra*), *Phoma* комплекс (на *P. nigra*), *Aureobasidium pullulans* (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud (на *P. nigra*).

Среди выявленных микромицетов следует отметить виды, способные вызывать преждевременное опадение хвой, усыхание и гибель молодых сосен, ослабление взрослых деревьев. Среди них инвазивный вид *Lecanosticta acicola* – возбудитель коричневого пятнистого ожога хвой сосны, который во многих странах наносит значительный ущерб сосновым насаждениям, в Беларуси является карантинным объектом. По всей кроне на хвоинках появляются желтые и коричневатобурые пятна широко-клиновидной формы, некротические полосы с желтой каймой. На некоторых хвоинках отмечается пожелтение и побурение верхней части. Пораженная хвоя постепенно усыхает и при прикосновении легко осыпается. Много опавшей хвой задерживается на ветках в кроне сосны. Возбудитель болезни высоко вредоносный, так как заражает не только старую, но и молодую хвою, не достигшую однолетнего возраста. В период проведения исследований выявлен единичный случай болезни на хвое сосны черной в насаждениях Минска.

Диплодиоз, или болезнь увядания вершинных побегов сосны (возбудитель – гриб *Sphaeropsis sapinea*), а также склеродерриевый, или побеговый, рак хвойных пород (возбудитель – гриб *Gremmeniella abietina*) выявлены на разных видах сосны, как на молодых, так и на старых деревьях, повсеместно. До сих пор дискуссионным остается вопрос, являются ли эти виды чужеродными для республики. Независимо от этого, поражение сосен этими грибами приводит к значительному снижению декоративности насаждений, а для молодых деревьев это высоко вредоносные виды, поражение которыми может иметь разрушительные последствия – приводить к усыханию и гибели растений [1].

Повсеместно на урбанизированных территориях распространены возбудитель обыкновенного шютте (гриб *Lophodermium pinastri*). Гриб встречается во всех районах выращивания сосны, поражает сосну обыкновенную, кедровую сибирскую, горную, черную и другие виды [5, 6]. Считается, что взрослым насаждениям обыкновенное шютте не наносит существенного ущерба [5, 7], однако в

период проведения исследования мы регулярно выделяли данный вид из однолетней хвой, что указывает на его потенциально высокую вредоносность.

Болезнь пожелтения хвой сосны (возбудитель – гриб *Cyclaneusma minus*) также распространена на урбанизированных территориях республики повсеместно. Поражается хвоя всех возрастов, в том числе однолетняя, ветки с усыхающей хвоей располагаются по всему периметру кроны. По литературным данным, болезнь вызывает усыхание и опадение одно- и двух-летней хвой, ослабление молодых сосен в культурах и подросте, в период эпифитотий способна наносить значительный экономический ущерб [2, 5].

В большинстве проанализированных образцов хвой сосны горной и черной, часто в комплексе с другими грибами, присутствовал также гриб *Neocatenulostroma germanicum*, вредоносность которого и инвазивный статус пока неясны. В соседних странах исследователи рассматривают этот вид как потенциально опасный, вызывающий побурение хвой [8].

Песталоциеподобные грибы, вызывающие некротическое поражение побегов и гниль хвой-нок (*Pestalotiopsis funerea*, *Truncatella hartigii*) на соснах встречались редко, в основном, на ослабленных растениях, в комплексе с другими микромицетами. Способны наносить значительный ущерб в питомниках, вызывая гибель хвой и ветвей, а также стволиков сеянцев и молодых саженцев [1].

Следует отметить, что в основном спектр грибной инфекции был поливидовым: практически в каждом исследуемом образце хвой, побегов сосны отмечено наличие более чем одного вида грибов. Вполне возможно, что фитопатогенные комплексы могут характеризоваться большей вредоносностью, по сравнению с моноинфекциями. Аддитивный характер взаимоотношений грибов в патосистемах может вызывать появление новых или изменение типичных симптомов болезни, что усложняет постановку диагноза и затрудняет разработку защитных мероприятий. Сведения по биологии большинства вышеупомянутых патогенов, их встречаемости, вредоносности, путях распространения на территории республики пока разрозненны и немногочисленны. В связи с их потенциальной вредоносностью, проведение фитосанитарного мониторинга будет продолжено.

Список литературы

1. Жуков А.М., Гниненко Ю.И., Жуков П.Д. Опасные малоизученные болезни хвойных пород в лесах России: изд. 2-е, испр. и доп. – Пушкино: ВНИИЛМ, 2013. – 128 с.
2. Drenkhan R., Hanso M. Recent invasion of foliage fungi of pines (*Pinus* spp.) to the North-ern Baltics // *Forestry Studies*. – 2009. – Vol. 51. – P. 49-64.
3. Головченко Л.А., Дишук Н.Г., Пантелеев С.В., Баранов О.Ю. Новый инвазивный вид *Mycosphaerella dearnessii* в составе микобиоты хвой сосны на территории Беларуси // *Весті НАН Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2020. – Т. 65, № 1. – С.98-105.
4. Головченко Л.А., Дишук Н.Г., Пантелеев С.В., Баранов О.Ю. Новые данные о распространении инвазивного вида *Dothistroma septosporum* (Dorogin) M. Morelet на территории Беларуси // *Весті НАН Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 147-158.
5. Кузьмичев Е.П., Соколова Э.С., Мозолевская Е.Г. Болезни древесных растений: справочник [Болезни и вредители в лесах России. Том 1.]. – М.: ВНИИЛМ, 2004. – 120 с.

6. Синадский Ю.В. Сосна. Ее вредители и болезни. – М.: Наука, 1983. – 344 с.
7. Федоров Н.И. Лесная фитопатология: учеб. для студентов специальности «Лесное хозяйство». – Мн.: БГТУ, 2004. – 462 с.
8. Markovskaja S., Kačergius A., Davydenko S. First record of *Neocatenulostroma germanicum* on pines in Lithuania and Ukraine and its co-occurrence with *Dothistroma* spp. and other pathogens // *Forest Pathology*. – 2016. – Vol. 46, Iss. 5. – P. 522-533.

ИНТЕГРАЦИЯ ТЕХНОЛОГИЙ БЕЗЛИНЗОВОЙ ГОЛОГРАФИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ АЭРОЗОЛЬНЫХ ЧАСТИЦ И ОПТИЧЕСКОГО, В ТОМ ЧИСЛЕ ЛАЗЕРНОГО АЭРОЗОЛЬНОГО АНАЛИЗА В ПРИЛОЖЕНИИ К АНАЛИЗУ СПОР НА ЧИПЕ И В ПРОЕКЦИОННЫХ АЭРОДИНАМИЧЕСКИХ ШЛИРЕН-ЯЧЕЙКАХ: ИДЕНТИФИКАЦИЯ И МОНИТОРИНГ

Градов О.В.¹, Жуланов Ю.В.^{2,3}, Макавеев П.Ю.^{1,2,3}, Марнаутов Н.А.⁴

¹ ФИЦ ХФ РАН им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

² ИФА РАН им. А. М. Обухова РАН, Москва

³ НИФХИ им. Л. Я. Карпова, Москва

⁴ ИБХФ РАН им. Н.М. Эмануэля, Москва

Общеизвестна роль грибных спор в формировании биогенных аэрозолей, в том числе аэрозолей, проникающих в жилища человека и имеющих прямое отношение к санитарии и гигиене [1,2]. Поэтому логичным представляется внедрение методов контроля аэро-золей с распознаванием образов в мониторинге воздушных сред помещений в целях медицинской микологии. В то же время, реализовать в режиме онлайн-мониторинга подсчет отдельных типов спор классическими лабораторными методами типа цитометрии и флуоресцентного сортирования с использованием меток, очевидно, не представляется возможным. Поэтому надо искать новые методы анализа, эксплицируя их из физики аэро-золевых систем как таковых – без химической модификации и внедрения меток (label-free analysis).

С классических работ коллектива академика И.В. Соколова-Петрянова по аэрозолям, завершившихся разработкой промышленных диффузионных аэрозольных спектрометров, а также автоматов, использовавшихся для анализа облачности атмосферы Венеры [3-6], известны принципы построения оптических установок контроля аэродисперсных систем с различными углами регистрации [7]. Эти схемы контроля используются и в XXI в. [8,9].

Подобные установки превосходят по угловым характеристикам обычные цитометры: «так как вид функции... зависит также и от угла, под которым собирается рассеянный свет, и от апертуры приемника», возможно улучшить «чувствительность амплитуды им-пульса к коэффициенту преломления... для углов сбора рассеянного света 75-105° и 31-54°»... «для частиц размером от 0,5 мкм и выше». При этом, «...благоприятные условия для отдельной регистрации создаются при углах 31-54°» [7]. То есть, на схеме с пере-страиваемым углом, работающей на принципах микрорефрактометрического анализа, можно получить больше информации о габитусе спор, чем в стандартных цитометрах, использующих окрашивание образца флуорохромами, так как стандартные проточные цитометры детектируют только: а) рассеяние света под малыми углами (от 1° до 10°); б) рассеяние света под углом 90°; так как вся информация снимается по множеству флуоресцентных каналов (от 2х до 20, но это требует использования соответствующей номен-клатуры дорогостоящих красителей). Но, в то же время, классические аэрозольные методы с различными углами контроля, не ведут к получению достаточно полной информации о габитусе частиц, что является необходимым для постановки задач идентификации в количественной спорометрии. Поэтому необходим ком-плементарный метод контроля габитуса спор на входе в аэрозольный счетчик или же в самой измерительной ячей-

ке (в ряде специальных случаев возможен также анализ in situ в плоскости фильтров, но этот подход мы не рассматриваем в настоящем докладе).

Одним из наиболее современных методов контроля аэрозолей является безлинзовая, в том числе голографическая (то есть, по определению, многоугольная по схеме измерения) микроскопия [10,11]. Она используется также для анализа биоаэрозолей [12,13]. На том же принципе голографической регистрации действуют безлинзовые цитометры [14-17]. Такие приборы могут быть использованы и для анализа грибков (например – дрожжей [18]) и их спор (например, для микроспоридий [19]). При использовании технологий распознавания образов и машинного обучения [20,21], позволяющих идентифици-ровать микроструктуры на чипе или в проекционной ячейке, данный метод может быть использован как референс-метод или способ валидации видовой или таксономической идентификации спор на входе в аэрозольный счетчик. Калибровку такого оборудования спорами можно осуществлять на установках с аэрозольными генераторами спор [22-24].

Список литературы

1. Kanaani H., Hargreaves M., Ristovski Z., Morawska L. Deposition rates of fungal spores in indoor environments, factors effecting them and comparison with non-biological aerosols // *Atmospheric Environment*. – 2008. – V. 42. – Iss. 30. – P. 7141-7154.
2. Zhu C., Kawamura K., Fukuda Y., Mochida M., Iwamoto Y. Fungal spores overwhelm biogenic organic aerosols in a midlatitudinal forest // *Atmospheric Chemistry and Physics*. – 2016. – V. 16. – Iss. 11. – P. 7497-7506.
3. Zhulanov Y. V., Mukhin L. M., Nenarokov D. F. Aerosol counts in venus clouds-preliminary VEGA-1 and VEGA-2 density profiles h= 63-47-km // *Soviet Astronomy Letters*. – 1986. – Vol. 12. – P. 49-52.
4. Жуланов Ю. В., Мухин Л. М., Ненарокров Д. Ф. О механизмах формирования облачного слоя атмосферы Венеры // Доклады Академии наук СССР. — 1987. — Т. 295, № 2. — С. 330-334.
5. Жуланов Ю.В., Мухин Л.М., Ненарокров Д.Ф., Лушников А.А., Петрянов И.В. О структуре облачного слоя атмосферы Венеры (проект “Bera”) // Доклады Академии наук СССР. — 1987. — Т. 292, № 6. — С. 1329-1333.
6. Жуланов Ю.В., Мухин Л.М., Ненарокров Д.Ф., Лушников А.А., Петрянов-Соколов И.В. Спектры размеров частиц облачного слоя атмосферы Венеры (эксперимент “Bera”) / Ю. В. Жуланов, Л. М. Мухин, Д. Ф. Нена-

- роков и др. // Доклады Академии наук СССР. — 1987. — Т. 295, № 1. — С. 67–70.
7. Жуланов Ю. В., Садовский Б. Ф., Петрянов И. В. О возможностях оптического метода анализа аэродисперсных систем // Доклады Академии наук СССР. — 1978. — Т. 240, № 1. — С. 51–53.
 8. Ankilov A., Baklanov A., Colhoun M., Enderle K.H., Gras J., Julanov Y., Kaller D., Lindner A., Lushnikov A.A., Mavliev R., McGovern F., Connor T.C., Podzimek J., Preining O., Reischl G.P., Rudolf R., Sem G.J., Szymanski W.W., Vrtala A.E., Wagner P.E., Winklmayr W., Zagaynov V. Particle size dependent response of aerosol counters // Atmospheric Research. — 2002. — V. 62. — Iss. 3-4. — P. 209–237.
 9. Ankilov A., Baklanov A., Colhoun M., Enderle K.H., Gras J., Julanov Y., Kaller D., Lindner A., Lushnikov A.A., Mavliev R., McGovern F., Mirme A., Connor T.C., Podzimek J., Preining O., Reischl G.P., Rudolf R., Sem G.J., Szymanski W.W., Tamm E., Vrtala A.E., Wagner P.E., Winklmayr W., Zagaynov V. Intercomparison of number concentration measurements by various aerosol particle counters // Atmospheric Research. — 2002. — V. 62. — Iss. 3-4. — P. 177–207.
 10. Çetintaş E., Luo Y., Nguyen C., Guo Y., Li L., Zhu Y., Ozcan A. Characterization of exhaled e-cigarette aerosols in a vape shop using a field-portable holographic on-chip microscope // Scientific Reports. — 2022. — V. 12. — Iss. 1. — P. 3175.
 11. Luo Y., Wu Y., Li L., Guo Y., Cetintas E., Zhu Y., Ozcan A. Dynamic imaging and characterization of volatile aerosols in E-cigarette emissions using deep learning-based holographic microscopy // ACS sensors. — 2021. — V. 6. — Iss. 6. — P. 2403–2410.
 12. Wu Y., Calis A., Luo Y., Chen C., Lutton M., Rivenson Y., Lin X., Koydemir H.C., Zhang Y., Wang H., Göröcs Z., Ozcan A. Label-free bioaerosol sensing using mobile microscopy and deep learning // ACS Photonics. — 2018. — V. 5. — Iss. 11. — P. 4617–4627.
 13. Ozcan A., Wu Y. Label-free bio-aerosol sensing using mobile microscopy and deep learning : пат. 11262286 США. — 2022.
 14. Seo S., Su T.W., Tseng D.K., Erlinger A., Ozcan A. Lensfree holographic imaging for on-chip cytometry and diagnostics // Lab on a Chip. — 2009. — V. 9. — Iss. 6. — С. 777–787.
 15. Su T.W., Seo S., Erlinger A., Tseng D., Ozcan A. Towards Wireless Health: Lensless On-Chip Cytometry // Optics and Photonics News. — 2008. — V. 19. — Iss. 12. — P. 24.
 16. Seo S., Su T.W., Erlinger A., Ozcan A. Multi-color LUCAS: Lensfree on-chip cytometry using tunable monochromatic illumination and digital noise reduction // Cellular and Molecular Bioengineering. — 2008. — V. 1. — Iss. 2. — P. 146–156.
 17. Wei Q., McLeod E., Qi H., Wan Z., Sun R., Ozcan A. On-chip cytometry using plasmonic nanoparticle enhanced lensfree holography // Scientific reports. — 2013. — V. 3. — С. 1699.
 18. Feizi A., Zhang Y., Greenbaum A., Guziak A., Luong M., Chan R.Y.L., Berg B., Ozkan H., Luo W., Wu M., Wu Y., Ozcan A. Rapid, portable and cost-effective yeast cell viability and concentration analysis using lensfree on-chip microscopy and machine learning // Lab on a Chip. — 2016. — V. 16. — Iss. 22. — P. 4350–4358.
 19. Snow J.W., Koydemir H.C., Karınca D.K., Liang K., Tseng D., Ozcan A. Rapid imaging, detection, and quantification of *Nosema ceranae* spores in honey bees using mobile phone-based fluorescence microscopy // Lab on a Chip. — 2019. — V. 19. — Iss. 5. — P. 789–797.
 20. Zhang Y., Ouyang M., Ray A., Liu T., Kong J., Bai B., Kim D., Guziak A., Luo Y., Feizi A., Tsai K., Duan Z., Liu X., Kim D., Cheung C., Yalcin S., Koydemir H.C., Garner O.B., Di Carlo D., Ozcan A. Computational cytometer based on magnetically modulated coherent imaging and deep learning // Light: Science & Applications. — 2019. — V. 8. — Iss. 1. — P. 91'1–91'15.
 21. Gorocs Z., Tamamitsu M., Bianco V., Wolf P., Roy S., Shindo K., Yanny K., Wu Y., Koydemir H.C., Rivenson Y., Ozcan A. A deep learning-enabled portable imaging flow cytometer for cost-effective, high-throughput, and label-free analysis of natural water samples // Light: Science & Applications. — 2018. — V. 7. — Iss. 1. — P. 66'1–66'12.
 22. Simon X., Betelli L., Koehler V., Coulais C., Duquenne P. Generation of actinomycetes aerosols containing spores and mycelium: Performances of a liquid bubbling aerosolizer // Aerosol Science and Technology. — 2013. — V. 47. — Iss. 2. — P. 158–168.
 23. Rabe R., Wagner N. Production of standardized test aerosols with fungal spores // *Ge-fahrstoffe Reinhaltung der Luft*. — 2000. — V. 60. — Iss. 10. — P. 407–411.
 24. Lee B.U., Kim Y.J., Lee C.H., Yun S.H., Bae G.N., Ji J.H. Development of a fungal spore aerosol generator: Test with *Cladosporium cladosporioides* and *Penicillium citrinum* // Journal of microbiology and biotechnology. — 2008. — V. 18. — Iss. 4. — P. 795–798.

РИСК КОНТАМИНАЦИИ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ ТЕРМОФИЛЬНЫМИ ГРИБАМИ

Григорян К. М.

Ереванский Гос. Университет, Институт биологии

Введение

Среди эукариотических организмов немногочисленное количество видов грибов способны развиваться при температуре выше 55°C. К таким грибам относятся термофильные и термотолерантные микромицеты, условно различаемые на основе их минимальной и максимальной температурах роста (Maheshwari et al., 2000). Термофильные грибы представляют довольно малочисленную в таксономическом отношении, но распространенную группу

микроскопических грибов (Балабанова и соавт., 2017). Минимальная температура роста термофильных грибов находится на уровне 20°C и выше, максимальная - в основном выше 50°C, термотолерантные - имеют диапазон температур роста от менее 200 С до 40 °С. Подавляющее большинство термотолерантных видов грибов не способны сохранять жизнеспособность при длительном воздействии температур выше 40–45°C (Robert et al., 2015). Свойство термофилии у грибов не так экстремальна, как у

эубактерий или архей, некоторые виды которых способны сохранять жизнеспособность при температуре около 100°C или выше в термальных или гидротермальных источниках, в процессе стерилизации, при производстве консервированных пищевых продуктов (Blochl, et al., 1997). Около 30 из 50 000 зарегистрированных видов грибов способны преодолеть верхний температурный предел, установленный для эукариотических организмов. Возможно, из-за умеренной степени термофильности и ограниченной среды обитания, термофильные грибы не получали широкой огласки и достаточного внимания в прошлом столетии. Согласно (Alanutsevich et al., 2016) для защиты клеточных макромолекул термофильные организмы способны вырабатывать механизмы стойкой термотолерантности. В отличие от мезофильных микромицетов, грибы-термофилы способны к росту при высоких температурах. По Тансейну (Tansey et al., 1972), исследование этой группы грибов продолжает давать ученым ценный экспериментальный материал для изучения механизмов, определяющих и допускающих их рост при умеренно высоких температурах, максимальное значение которых не превышает 60–62°C. В соответствии с результатами исследовательской работы проведенной группой ученых, отдельные виды термофильных грибов способны сохранить жизнеспособность при 85°C в течение 4,5 мин. (Tournas et al., 2006). Это обусловлено их физиолого-биохимическими особенностями, а именно резистентностью генетических структур, ферментов (внеклеточных и внутриклеточных), синтезируемых термофилами, к денатурирующему воздействию высоких температур (Taylor et al., 2010). Клеточные мембраны грибов-термофилов отличаются от мезофильных грибов по составу липидно-белкового комплекса (Querol et al., 1996; Taylor et al., 2010; Alanutsevich et al., 2014). При оптимальных температурах состав мембранных липидов характеризуется высоким содержанием фосфатидных кислот (20–35% от суммы общих фосфолипидов), являющихся основными компонентами мембранных липидов, наряду с фосфатидилхолинами, фосфатидилэтаноламинами и стеролами. Согласно результатам (Alanutsevich et al., 2016) в ответ на тепловой шок увеличивается доля фосфатидных кислот и стеролов и снижается количество фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов. В исследованиях (Alanutsevich et al., 2014; 2016) показана роль трегалозы в обеспечении термофильности микромицетов. У мезофильных грибов при тепловом воздействии имеет место снижение уровня трегалозы, и грибы не сохраняют термотолерантность к летальному тепловому шоку, что свидетельствует о ключевой роли трегалозы в этом процессе.

Термофильные грибы составляют основную часть микрофлоры, которая развивается в почве, скоплениях растительного материала, продукции сельского и лесного хозяйства и в остатках, состоящих из органических соединений, в которых теплая, влажная и аэробная среда обеспечивает основные условия для их развития (Tribst et al., 2009). Они составляют гетерогенную физиологическую группу, куда входят различные роды из следующих классов *Phycomycetes*, *Ascomycetes*, *Fungi Imperfecti* и *Mycelia Sterilia* (Cooney et al., 1963).

В представленном обзоре основное внимание уделяется термофильным и термотолерантным видам грибов влияющих на качество и безопасность продуктов переработки плодов и овощей.

Термофильные и термотолерантные виды грибов, относящиеся к родам *Talaromyces spp.*, *Neosartorya spp.* и *Byssochlamys spp.* являются основными контаминантами продуктов, изготовленных путем тепловой обработки пло-

дов и овощей, таких как пюре и фруктовые соки, напитки, консервированные фрукты (Hocking and Pitt, 2001). Указанные грибы наносят производством огромный экономический ущерб. Это в основном *Eupenicillium brefeldianum*, *Neosartorya fischeri*, *Talaromyces flavus* и *Byssochlamys nivea* (Scholte et al., 2004). Термофильные грибы определяют стабильность фруктовых и овощных соков. Они способны продуцировать пектолитические ферменты, сохранять жизнеспособность при низкой концентрации кислорода и низком значении pH (3,0–4,5) (Tournas et al., 2006). Наиболее распространенными, в соковой индустрии, видами являются *Byssochlamys fulva*, *B. nivea*, *Neosartorya fischeri* и *Talaromyces flavus* (ICMSF, 2005; Silva et al., 2006). Вышеуказанные виды выдерживают коммерческую тепловую пастеризацию, которая обычно применяется в производстве фруктовых соков, благодаря образованию термостойких аскоспор (Salomao, et al., 2007). Верхний предел термостойкости аскоспор микромицетов зависит от вида сырья, содержания сахара. С увеличением концентрации сахара повышается термоустойчивость микроорганизмов (Silva et al., 2006). Согласно данным Обета, (Obeta et al., 2007) установлено присутствие термостойких микромицетов таких как *Paecilomyces variotii*, *Aspergillus tamari*, *A. flavus* и *A. ochraceus*, в шестидесяти пакетированных нигерийских фруктовых соках. Такие продукты как фруктовые напитки, содержащие сахар и фрукты, фруктовые йогурты также подвержены контаминации термофильными и термотолерантными микромицетами и в связи с этим, подлежат пастеризации для инактивации большинства ферментов и вегетативных клеток грибов и бактерий. Температура пастеризации указанных продуктов находится в диапазоне от 80°C до 90°C, от 15 секунд до нескольких минут. Согласно процесс пастеризации недостаточен для уничтожения термостойких плесневых грибов (Pieskova et al., 2000). Термостойкость микромицетов зависит от их способности образовывать термостойкие структуры, такие как аскоспоры, склероции и другие (Salomao, et al., 2007). Таким образом, *Byssochlamys spp.*, *Talaromyces spp.* и *Neosartorya spp.* часто идентифицируются как термостойкие плесневые грибы в продуктах из фруктов, подвергшихся тепловой обработке. Высокая вероятность контаминации термофильными грибами готовых продуктов зависит от степени контактирования с почвой, в период вегетации сырьевых фруктов и ягод (Bechaut et al., 2001). Во многих странах виды рода *Byssochlamys spp.* идентифицированы как широко распространенные термофильные плесневые грибы, которые являются причиной порчи переработанных фруктов и ягод, подвергнутых тепловой обработке (King et al., 1969). Виды рода *Byssochlamys* являются наиболее специфичными возбудителями порчи продуктов переработки плодово-ягодных культур, с высокой кислотностью. Их аскоспоры обладают способностью оставаться в почве, на стадии покоя в течение длительного времени. Во время пастеризации определенное количество аскоспор не теряет жизнеспособность и способна вызвать порчу готового продукта в результате пост-пастеризационного прорастания и последующего роста (Quintavalla et al., 1993). Рост термофильных грибов активизируется при низком значении активности воды - до 0.90 (San`Ana et al., 2009). Другими видами, которые, как известно, связаны с порчей пастеризованных продуктов переработки фруктов являются *Neosartorya*, *Talaromyces*, *Eupenicillium* и *Eurotium* (Isara et al., 2021).

Термостойкие плесневые грибы причиняют большой экономический ущерб в производстве фруктовых соков, напитков. Они продуцируют пектолитические ферменты, которые полностью разрушают консистенцию

фруктов, вызывают разделение фаз в соках и напитках, способствуют появлению неприятного привкуса и вызывают газообразование (Kodzekidou, 2014; Evelin et al., 2017). Термофильные грибы также представляют опасность для здоровья населения так как определенные виды являются продуцентами микотоксинов - биссохламеиновая кислота, пагулин, биссотоксин А, веррукулоген, фумитреморгин А и С (De Sylos et al., 1999; Delage et al., 2003).

Цель и задачи исследования

Основная цель представленного исследования выделение и идентификация термофильных видов грибов из пастеризованных фруктовых соков, в производственных условиях.

Для достижения представленной цели были поставлены следующие задачи:

1. Выявление основных источников контаминации готовых продуктов видом *Byssochlamys fulva*
2. Определение термостабильности аскоспор термофильного вида *Byssochlamys fulva* во фруктовых соках
3. Определение антифунгальной активности разных биоцидов относительно штаммов *Byssochlamys fulva*

Материал и Методы исследования

Отбор образцов пастеризованного фруктового сока разных наименований, с признаками порчи проводили в течение 2019-2020 гг с предприятия по производству фруктовых и овощных консервов.

Выделение и идентификация штаммов вида гриба:

Для выделения грибов из фруктовых соков использован метод прямого посева и метод разведения, с последующим высевом на селективные, диагностические среды, в соответствии с NF ISO 7954-93. До посева образцы фруктовых соков прогревали при температуре 750С в течение 20 мин.

Методом мазков отобраны 15 образцов с производственного оборудования – труба подачи сока, асептический стерилизатор –наполнитель, головка наполнителя, водонагреватель и с рабочих поверхностей. Проведен посев мазков методом штриха на диагностических средах согласно ИСО 18593 стандартного метода.

Рис.1 Аскоспоры термофильного



Таблица 1

Определение антигрибной активности 5% водного раствора перекиси водорода и 5% горячего раствора каустической соды относительно *B. fulva* J201 дисковым методом

Тестируемые биоциды относительно <i>B. fulva</i>	Дни/ Диаметр колонии <i>B. fulva</i> /мм			
	3	7	10	14
Control <i>B. fulva</i>	10	16	23	30
5% H ₂ O ₂	5	12	17	20 (33.3%)
5% каустическая сода, 90°C	0,0	0,0	0,10	0,12 (99.6%)

Метод получения аскоспор гриба

Аскоспоры гриба *B. fulva* получали в соответствии с методом, представленным в работе (Sant'Ana et al., 2009).

Метод определения термостабильности аскоспор *B. fulva*

Яблочный концентрат со значением Brix 70 % доводили дистиллированной водой до значения Брикс 12%. Аскоспоровую суспензию, готовили из 7 дневной культуры, после двойной гомогенизации. Затем готовили разведение до значения 108 в 1 мл.

Использованы следующие режимы термообработки: 500С, 700С, 900С в течение 5, 10 и 20 мин. Посевы проводили на картофельно декстрозном агаре (Hi Media M096).

Метод определения антигрибной активности биоцидов
Определение ангрибной активности выбранных биоцидов проводили дисковым методом в соответствии с CLSI, 2006.

Относительно *Byssochlamys fulva* испытаны: 4% водный раствор перекиси водорода и 5 % горячий водный раствор каустической соды.

Диски диаметром в 6 мм пропитывались суспензией спор *Byssochlamys fulva*, по истечению 10 мин диски помещались в чашки Петри с питательной средой, содержащей определенную концентрацию соответствующего биоцида. Каждые 3 дня измеряли диаметр колонии. В качестве контроля использовали питательную среду, не содержащую биоцид. Наблюдение за ростом гриба велись в течение 14 дней. Процент ингибирования определяли по следующей формуле:

$$N=(P_0-P_1)/P_0 \times 100$$

P₀- Рост гриба в контрольном варианте

P₁- Рост гриба в опытном варианте

Результаты

В результате микологического анализа 28 образцов пастеризованного фруктового сока выделено и идентифицировано 8 штаммов термофильного гриба из рода *Byssochlamys*-

B. fulva. С линии по производству пастеризованных фруктовых соков изолировано 12 штаммов указанного вида.

Рис. 2 контроль -1; 2- антигрибная активность 5% перекиси водорода; 3 – антигрибная активность 5%раствора каустической соды.



Результаты таблицы 1 показали высокую активность относительно термофильного гриба *B. fulva* J-201, 5% раствора каустической соды, при этом отмечается 99.6 % ингибирования роста гриба *B. fulva*

Результаты, полученные на основании проведения теста на выживаемость аскоспор термофильного гриба *Byssochlamys fulva* в яблочном соке при разных режимах термообработки приводятся в таблице 2.

Таблица 2

Результаты тестирования яблочного сока, искусственно инокулированного аскоспорами *B. fulva* J-201, после термической обработки.

Режимы термообработки (500 С, 700 С, 900 С в течение 5, 10 и 20 мин)

Тестируемый вид	50°C			70°C			90°C		
	5 min	10min	20min	5min	10min	20min	5min	10min	20min
<i>B. fulva</i> / 50 ml juice	+++	+++	+++	++	+	ND	++	ND	ND

Примечание: +++ - обильный рост > 103 кое/мл; ++ - умеренный, до 102 кое/мл; + - единичные колонии; ND-отсутствие роста

Рис.3 Рост *B. fulva* J-201 после 20-мин.обработки при температуре 500С



Рис. 4 Рост *B. fulva* J-201 после 20-мин.обработки при температуре 700С

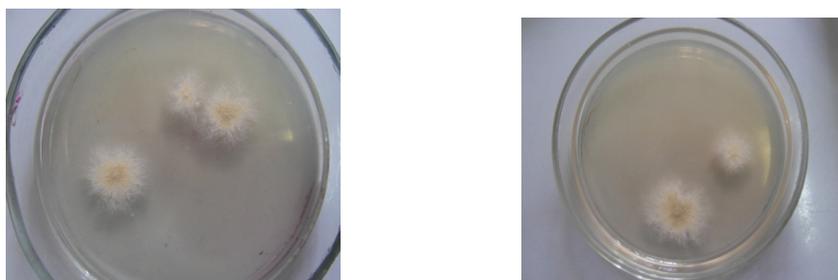
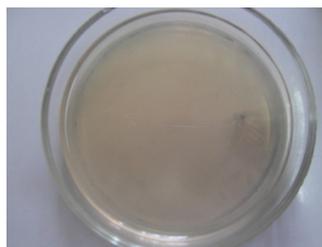


Рис. 5 Рост *B. fulva* J- 201 после 20-мин.обработки при температуре 900С

Проведенный мониторинг в процессе производства пастеризованных фруктовых соков дал возможность установить основные критические точки, которые должны регулярно контролироваться на присутствие термофильных микромицетов.

На основании проведенных исследований составлены рекомендации, с целью предотвращения контаминации пастеризованных плодово-ягодных соков термофильными грибами- потенциальными продуцентами патулина:

1. Установлены режимы пастеризации для фруктовых соков - не менее 900 С в течение 20 мин.
2. Рекомендуется ежедневная обработка рабочих поверхностей, технологического оборудования, тары 5% горячим водным раствором каустической соды.

Список литературы

1. R. Maheshwari, G. Bharadwaj, M. Geshwara K. Bhat. Thermophilic Fungi: Their Physiology and Enzymes // Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2000. V.64. S.3. P. 461–488.
2. Балабанова Л.А., Пивкин М.В., Худякова Ю.В., Киричук Н.Н., Подволоцкая А.Б., Сон О.М., Текутьева Л.А. Скрининг мицелиальных грибов как потенциальных продуцентов кормового белка. // Современные проблемы науки и образования. 2017. N 6.
3. V. Robert, G. Cardinali, A. Casadevall, Distribution and impact of yeast thermal tolerance permissive for mammalian infection // BMC Biology. 2015. V. 13 S. 18.
4. Blochl, E., R. Rachel, S. Burggraf, D. Hafenbradl, H. W. Jannasch, and K. O. Stetter. 1997. *Pyrolobus fumarii*, gen. and sp. nov., represents a novel group of archaea, extending the upper temperature limit for life to 113°C. // Extremophiles. V. 1. P.14–21.
5. E. Alanutsevich, O. Danilova, N. Groza, E. Kotlova, Heat shock response of thermophilic fungi: Membrane lipids and soluble carbohydrates under elevated temperatures. // Microbiology. 2016. V.162. S.6.
6. Tribst, A.A., Sant'Ana Ade, S., De Massaguer, P.R., Review: Microbiological quality and safety of fruit juices—past, present and future perspectives. // Crit. Rev. Microbiol. 2009. V.35. P.310–339.
7. Tansey, M. R., and T. D. Brock. 1972. The upper temperature limit for eukaryotic organisms. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V.69. P.2426–2428.
8. T. J Taylor, I. I Vaisman, Discrimination of thermophilic and mesophilic proteins. // BMC Structural Biology. 2010. V.10.(Suppl 1). S5.
9. Querol E, Perez-Pons JA, Mozo-Villarias A: Analysis of protein conformational characteristics related to thermostability. // Protein Eng 1996, V. 9. S.3. P.265–271.
10. Cooney, D. G., and R. Emerson. Thermophilic fungi. 1964. An account of their biology, activities and classification. W. H. Freeman & Co., San Francisco, Calif.
11. Scholte, R., Samson, R., Dijksterhuis, J., Spoilage fungi in the industrial processing of foods. In: Samson, R., Hoekstra, E., Frisvad, J. (Eds.). // Introduction to food- and air-borne fungi. 2004. seventh ed. Centraalbureau voor schimmelcultures, Utrecht. The Netherlands, P. 339–359.
12. E. Piecková and R. A. Samson, Heat resistance of *Paecilomyces variotii* in sauce and juice. // Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2000. V. 24, S. 4, P. 227–230,
13. Hocking, A.D., Pitt, J.I., Moulds. In: Moir, C.J., Anderw-Kabilafkas, C., Arnold, G.,
14. Cox, B., Hocking, A.D., Jensen, I. (Eds.). Spoilage of Processed Foods: Causes and
15. Diagnosis. AIFST Inc. (NSW Branch). // Food Microbiology Group, 2001 Australia. P.281– 361
16. V. H. Tournas, J. Heeres, and L. Burgess, Moulds and yeasts in fruit salads and fruit juices // Food Microbiology. 2006. V. 23. S.7. P. 684–688.
17. B. C. M. Salomão, A. P. Slongo, and G. M. F. Aragão, Heat resistance of *Neosartorya fischeri* in various juices // Food Science and Technology. 2007. V. 40. S. 4, P. 676–680.
18. ICMSF, Soft drinks, fruit juices, concentrates and food preserves. 2005. in Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodity. Kluwer Academic Publisher.
19. F. V. M. Silva and P. Gibbs, Target selection in designing pasteurization processes for shelf-stable high-acid fruit products. // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2004. V. 44. S. 5. P. 353–360.
20. J. A. N. Obeta and J. O. Ugwuyani, Heat resistant fungi in Nigerian fruit juices. // Int. J. of Food Science and Technology. 2007. V. 30. P. 587–590.
21. L. R. Beuchat, J. I. Pitt. Detection and enumeration of heat resistant molds, in Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3rd ed., 2001. Ch. 21. P. 251–263.
22. V. Tournas. Heat-resistant fungi of importance to the food and beverage industry. // Crit. Rev. Microbiol. 1994. V. 20. P. 243–263.
23. D. King, H. D. Michener, K. A. Ito. Control of *Byssoschlamys* and related heat-resistant fungi in grape products // Appl. Microbiol. 1969. V. 18, S.2. P. 166–173.
24. S. Quintavalla and E. Spotti, Heat resistance of *Talaromyces flavus*, *Neosartorya fischeri* and *Byssoschlamys nivea* isolated from fresh fruits. // MAN Microbiologie, aliments, nutrition, 1993. V. 11, S. 3, P. 335–341.
25. S. Sant'Ana, A. Rosenthal, and P. R. Massaguer, Heat resistance and the effects of continuous pasteurization on the inactivation of *Byssoschlamys fulva* ascospores in clarified apple juice // J. Appl. Microbiol. 2009. V. 107. P. 197–209.
26. P. Kotzekidou, *Byssoschlamys* // Encyclopedia of Food Microbiology, 2014. V. 1. P. 344–350.
27. V. N. Scott and D. T. Bernard. Heat resistance of *Talaromyces flavus* and *Neosartorya fischeri* isolated from commercial fruit juices // J. Food Prot. 1987. V. 1. S. 1. P. 18–20.

28. A.W.S Ishara, G.D.D.K.Gunasena. Heat Resistant Moulds in Pasteurized Fruit Syrups //European Journal of Agriculture and Food Sciences. 2021. V. 3. S. 1.
29. Evelyn , Filipa V.M. Silva. Resistance of *Byssochlamys nivea* and *Neosartorya fischeri* mould spores of different age to high pressure thermal processing and thermosonication. // J. of Food Engineering. 2017. V.201. P. 9 -16.
30. N. Delage, A. d'Harlingue, B. Colonna Ceccaldi, and G. Bompeix, Occurrence of myco-toxins in fruit juices and wine. //Food Control, 2003.V. 14, S. 4, P. 225–227.
31. C. M. De Sylos and D. B. Rodriguez-Amaya, Incidence of patulin in fruits and fruit juices marketed in Campinas, Brazil. //Food Additives and Contaminants, 1999.V. 16, S. 2, P. 71–74,.
32. Clinical Laboratory Standards Institute. 2006. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard— 9th ed. document M2-A9. 26:1. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

МИКОБИОТА ГОРОДСКИХ КОНСТРУКТОЗЕМОВ

**Иванова А.Е.^{1,2}, Сидорова Т.А.¹, Умарова А.Б.¹, Кокорева А.А.¹, Сусленкова М.М.¹, Ежелев З.С.¹,
Бутылкина М.А.¹, Лось Е.А.¹, Холопов Ю.В.³**

¹ *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения*

² *Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Москва*

³ *Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар*

Трансформация почвенного покрова в урбоземосистемах приводит к изменению свойств и метаболической активности почвенного микробиома. Уже накоплен значительный массив данных об особенностях микобиоты в городских почвах и сопредельных средах, установлен ряд закономерностей формирования и функционирования грибных сообществ городских почв. В современной практике обустройства городских территорий при строительстве и озеленении расширяется использование целенаправленно создаваемых искусственных почвогрунтов по образу природной почвы, состоящих из плодородного насыпного гумусированного слоя и серии слоев грунта разного гранулометрического состава и происхождения. Создание почвенных конструкций нацелено на обеспечение качества среды обитания в местах концентрации населения и поддержание благоприятных условий для роста растений при проведении озеленения. Однако вместе с грунтом в городскую среду интродуцируются иные, отличные от нативных, сообщества почвообитающих грибов, среди которых могут присутствовать потенциально опасные для здоровья человека и патогенеза растений виды. Вопросы роли почвенной микобиоты в формировании свойств искусственно создаваемых почв, дальнейшей судьбы интродуцируемых с почвогрунтами грибных сообществ, вероятности контаминации городской среды экологически значимыми, патогенными для растений, животных и человека видами и группировками грибов - почти не исследованы, однако крайне важны для понимания функционирования территорий урбоземосистем с искусственно создаваемыми почвогрунтами, расчета рисков биологического загрязнения.

Целью данной работы, осуществляемой коллективом авторов, является анализ трансформации видовой структуры и свойств микобиоты почвенных конструкций с момента их создания и в первые годы функционирования в урбоземосистемах в условиях гумидного и аридного климата на Европейской территории России.

В городах Сыктывкар, Москва и Краснодар, расположенных в разных природно-климатических зонах, в 2020-2022 годах был проведен натурный модельный эксперимент. Искусственные почвенные конструкции слоистого, имитирующего естественное сложение, и смешанного типа

разместили на типовых городских площадках в селитебной зоне. Для возможности сравнительного анализа во всех городах при создании конструкций использовали единые компоненты грунта, привезенные из Москвы. Закладку конструкций провели летом 2020 г. (июнь-июль), последующие отборы образцов для анализов осуществляли в этот же период ежегодно. Анализ свойств микобиоты и физических параметров как характеристики местообитания грибов осуществляли из разных слоев по всей глубине конструкций. Контролем послужили окружающие городские почвы урбаноземы, в которые были встроены конструкции, и ненарушенные зональные почвы регионов. Для оценки возможного расселения грибов в окружающую среду отдельно проводили послойный отбор примыкающей к стенкам каждой конструкции городской почвы.

Видовой состав культивируемых грибов разных функциональных групп осуществляли классическим методом посева почвенных разведений (Методы..., 1991) на селективные питательные среды (Чапека, Сабуро, КДА) с последующей идентификацией по культурально-морфологическим и молекулярным свойствам. Было выполнено определение полного таксономического состава микобиоты конструкций и урбаноземов методом секвенирования нового поколения (NGS) на платформе Illumina на базе сервисной лаборатории ООО «БиоСпарк». Метаболическое профилирование грибных сообществ проводили методом МСТ в модификации для грибов (Данилогорская и др., 2015). Биомассу оценивали методом прямой люминесцентной микроскопии при окрашивании калькофлуором белым (Методы..., 1991).

Результаты показали, что при обустройстве и рекультивации городских территорий в начальный момент создания искусственных почв может происходить существенное пополнение грибного пула. В Москве и Краснодаре в конструкциях при их создании было выявлено в 1,5 - 2 раза большее разнообразие культивируемых грибов по сравнению с окружающими урбаноземами и даже зональными почвами, соответственно, доминирующие в сообществах виды различались. Также зарегистрированы более высокие уровни численности грибных КОЕ и суммарного содержания грибной биомассы, в составе которой в свежих кон-

струкциях преобладал мицелий, в отличие от окружающих урбаноземов. В Сыктывкаре ситуация на момент закладки оказалась несколько иная, численность и разнообразие культивируемых грибов в конструкциях были сопоставимы с уровнями, выявленными в контрольных почвах, различался таксономический состав. С материалом почвенных конструкций в городскую среду поступает много функционально полезных для экосистемы грибов, например, целлюлозолитических. Однако в свежих конструкциях был выявлен богатый спектр видов, относимых к потенциально патогенным для человека (СанПиН 3.3686-21), их набор и обилие оказались больше, чем в окружающих урбаноземах. То есть, следует обращать внимание, что при конструировании почв биологическое загрязнение городской среды возрастает.

Спустя год состав и структура сообществ культивируемых грибов в исходно одинаковом материале конструкций в каждом городе достоверно различались. Отмечается возрастание сходства с сообществами окружающих городских почв. Существенно возросла доля «местных» видов: в Сыктывкаре – представителей рода *Trichoderma*, в Москве – *Penicillium*, в Краснодаре – *Aspergillus*. В Сыктывкаре сообщество конструкции в наибольшей степени оказалось сходно с вмещающей окружающей почвой, появились «местные» виды, от интродуцированного сообщества унаследовано обильное наличие *Aspergillus*, в следовых количествах присутствующих в окружающем урбаноземе. В грибных сообществах конструкций в Москве и Краснодаре сохранилось больше общих между собой черт, но есть и отличие – в московских конструкциях регистрируется высокое обилие мукооровых грибов, характерных для первых стадий сукцессий, тогда как в конструкциях в Краснодаре эти грибы спустя год элиминировались, зато возросла доля целлюлозолитических грибов, в том числе, рода *Trichoderma*, то есть сукцессионные трансформации грибного сообщества конструкций в Краснодаре происходят быстрее. Выявленные отличия конструкций в разных городах по присутствию функциональных группировок грибов подтверждены данными мультисубстратного тестирования. Важно отметить, что обилие потенциально патогенных видов грибов спустя год функционирования конструкций не увеличивалось и даже снижалось благодаря общему возрастанию разнообразия за счет поступления в конструкции «местных» видов из окружающей почвы.

Данные секвенирования подтвердили высокоеразнообразие грибного пула конструкций. В верхних слоях конструкций через год после создания число оригинальных OTU в несколько раз (в 3-5, 2 и 7-9 раз в Сыктывкаре, Москве и Краснодаре, соответственно) превышало уровень в окружающем урбаноземе. В конструкциях Сыктывкара и Краснодара выявлено в 2 раза большее разнообразие грибов на уровне отделов. Для Москвы это превышение оказалось не столь велико, что обусловлено «родным» характером использованного для конструкций материала. Во всех

конструкциях большая часть грибных OTU (47-68%) принадлежала представителям отдела Ascomycota. Тогда как в урбаноземах Москвы и Краснодара преобладали (64-70%) представители Basidiomycota. В Сыктывкаре в урбаноземе более 50% грибных OTU принадлежало аскомицетам класса Saccharomycetes (по-видимому, «загрязнение» данной почвы дрожжевыми грибами было связано с выгулом лошадей на территории). Для всех конструкций также было зарегистрировано увеличение в 2-5 раз доли представителей Mortierellomycota по сравнению с урбаноземами.

Структура и видовой состав сообществ культивируемых грибов в пристеночных с конструкциями слоях почвы оказались существенно изменены по сравнению с микобиотой вмещающих урбаноземов и ближе по спектру и обилию видов к микобиоте самих конструкций. То есть, наблюдается рассеивание грибного пула из конструкций. В контактной зоне отмечается аккумуляция присутствия грибов, характерных для начальных этапов сукцессии, что может быть спровоцировано также активной миграцией органических соединений из конструкций в обедненные окружающие почвы и в итоге приводит к возрастанию мозаичности почвенных условий, изменению темпов трансформации веществ.

Полученные данные показали, что при создании почвенных конструкций в городскую среду поступает богатый пул грибов, которые относительно быстро (в течение первых лет) интегрируются в окружающую почвенную среду. Данные будут полезны для прогноза формирования и функционирования почвенных грибных сообществ в городских экосистемах, разработки рекомендаций по оптимизации биологической активности почв при почвенном конструировании и для контроля биозагрязнения в городской среде с учетом микологических показателей.

Полевые и лабораторные исследования проведены при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-29-05252 «Почвенные конструкции: фундаментальные физические и биологические аспекты их создания, функционирования и эволюции в условиях разного климата». Исследование выполнено в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды».

Список литературы

1. Методы почвенной микробиологии и биохимии. Под ред. Д.Г.Звягинцева. М.: Изд-во МГУ. 1991. 303 с.
2. Данилоторская А. А., Марфенина О. Е., Тухбатова Р. И., 2015. Опыт применения мультисубстратного тестирования для определения функционального разнообразия почвенных грибов // Микология и фитопатология. Т. 49. № 6. С. 340–348.
3. СанПиН 3.3686-21 от 28.01.2021 г. с изм. на 11.02.2022 г.

ВЛИЯНИЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ МУТАНТНОГО ШТАММА *ASPERGILLUS NIGER*

Н.К. Холмурадова¹, О.М. Пулатова¹, Н.Б. Исматов², Б.Х. Алимова¹, Т.Ш. Мирзаев¹, Махсумханов¹ А.А.,
И.И. Садигов², К.Д. Давраров¹.

¹Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан

²Институт ядерной физики Академии наук Республики Узбекистан

Ключевые слова: ионизирующее излучение, радиорезистентность, выживаемость.

При решении практических задач в биопромышленности весьма перспективным является использование γ -облучения при разработке технологий получения радиовакцин, радиоантигенов и других биологических препаратов [1].

Цель работы – исследование влияния γ -облучения на выживаемость мутантного штамма *A.niger* 67/2р продуцента лимонной кислоты в зависимости от исходного количества клеток инокулята, определение оптимальной дозы γ -облучения влияющего на кислотообразующую способность штамма.

Облучение микробного материала проводили с использованием установки для облучения ⁶⁰Со в Институте ядерной физики АН Республики Узбекистан. На суспензии конидий гриба *A.niger* 67/2р воздействовали различными дозами γ -облучения с мощностью экспозиционной дозы 0,05 Гр/с источник излучения ⁶⁰Со междозовый интервал (20; 15; 10; 5; 4; 3; 2 кГр).

Экспериментально установлено, что чувствительность мутантного штамма *A.niger* 67/2р к γ -облучению находится в прямой зависимости от исходного количества клеток инокулята. Так, под воздействием γ -облучения в дозе 10кГр и исходном количестве конидий мицелия 5,5x10³ наблюдается гибель исходного количества клеток конидий микромицета. Тогда, как при исходном количестве конидий мицелия 6,0x10⁶ в аналогичных условиях выживаемость составила 0.00093%. При высокой плотности конидий летальная доза наблюдалась при воздействии γ -облучением в дозе 15 кГр. При микрокопировании выживших конидий

морфология клеток не изменилась по сравнению с исходным штаммом. После воздействия γ -облучением каждую выросшую колонию микромицета высевали на селективную твердую среду для предварительной оценки кислотообразования [2]. Следует отметить, что при воздействии γ -облучением в дозе 2 кГр независимо от плотности инокулята микромицета у нескольких клонов зоны растворения мела вокруг колоний значительно превышала по сравнению с исходным штаммом *A.niger* 67/2р.

Таким образом, было показано, что количество или плотность мицелия в инокуляте, подвергнутом облучению, может влиять на дозу облучения, необходимую для инактивации микроорганизма. Выявлено, что низкие дозы облучения 2 кГр могут способствовать увеличению продукции кислотообразования.

Список литературы

1. Т.Р. Гайнутдинов, Р.Н. Низамов, В.П. Шашкаров, А.И. Никитин, А.М. Идрисов, Г.В. Конюхов, Н.Б. Тарасова. Способ лечения радиационных поражений организма// Патент № 2675598 С1 Рос. Федерация, МПК А61К 35/74, А61Р 43/00; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» - № 2018123061; заявл. 25.06.2018; опубл. 20.12.2018, Бюл. № 35.
2. Патент № IAP 07072. Пулатова О.М., Алимова Б.Х., Махсумханов А.А., Ташбаев Ш.А., Камбаралиева М.И., Холмурадова Н.К. Экспресс-способ для первичного отбора кислотообразующих мицелиальных грибов., заявитель и патентообладатель Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, UZ. Патентная заявка № IAP 20190069; дата подачи 21.02.2019, дата получения 22.08.2022.

ЧУЖЕРОДНЫЕ ФИТОПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ В ЕСТЕСТВЕННЫХ И АНТРОПОГЕННО ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ БЕЛАРУСИ

Храмцов А.К., Поликсенова В.Д., Лемеза Н.А., Сидорова С.Г., Стадниченко М.А., Федюшко И.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Проблема проникновения на территорию Беларуси чужеродных видов фитопатогенных микромицетов имеет целый ряд негативных последствий экологического, экономического и социального характера. В последние десятилетия, вследствие интенсификации трансграничных грузопотоков и расширения географии грузоперевозок, а также наблюдающихся изменений регионального климата и возросших темпов преднамеренной интродукции растений, интенсивность инвазионных процессов возросла. Огромную опасность создают также новые виды и внутривидовые формы микроскопических грибов и грибоподобных организмов, патогенных для растений, внедряющиеся в антропогенно измененные экосистемы, что приводит к эпифитотиям [1, 2].

Нами наблюдается проникновение на территорию Беларуси новых опасных фитопатогенов, расширение круга растений-хозяев или ареала уже известных инвазивных

паразитов растений. Зарегистрировано появление и распространение в республике фитопатогенных грибов и грибоподобных организмов, ранее характерных для южных территорий – некоторых видов мучнисторосяных грибов, возбудителей ржавчины; отмечен рост агрессивности и уровня паразитизма ранее малораспространенных видов грибов рода *Alternaria* и др.

В 2021-2022 гг. в рамках выполнения НИР «Инвазивные фитопатогенные грибы, грибоподобные организмы и беспозвоночные животные на культивируемых и близкородственных дикорастущих растениях: статус в сообществах, распространение, диагностика» нами осуществлены анализ данных литературы, сбор и идентификация патогенов, инвентаризация фитопатогенных микромицетов гербария БГУ (MSKU) с целью скрининга их на чужеродность и инвазивность.

В результате проведенных исследований установлено наличие 212 видов и внутривидовых таксонов фитопатогенных микромицетов, чужеродных для Беларуси, в том числе инвазивных и потенциально инвазивных. Среди них выявлено 162 вида инвайдеров (76,4 % от общего числа анализируемых), поражающих культурные растения 118 видов, 92 родов, 40 семейств, 3 классов и 2 отделов. Патогены принадлежат к 37 родам, 11 семействам, 8 порядкам, 7 классам, 4 отделам (*Oomycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycota* и *Deuteromycota*). Среди отмеченных микромицетов доминировали несовершенные (анаморфные, митоспоровые) грибы (107 видов, 66,0 %), вызывающие чаще всего разнообразные пятнистости и гнили. По хозяйственной значимости пораженные инвайдерами культурные растения относятся к зерновым (6 видов, 5,1 %), зернобобовым (2 вида, 1,7 %), овощным (14 видов, 11,9 %), масличным (6 видов, 5,1 %), плодово-ягодным (20 видов, 16,9 %) культурам, цветочно-декоративным травянистым (39 видов, 33,1 %), декоративным древесно-кустарниковым (21 вид, 17,8 %), пряно-ароматическим (6 видов, 5,1 %) и лекарственным (4 вида, 3,3 %) растениям.

Среди чужеродных фитопатогенов отмечено 27 видов (12,7 % от общего числа анализируемых) микромицетов, поражающих сорные покрытосеменные растения 21 вида, 21 рода, 13 семейств и 2 классов. Патогены относятся к 12 родам, 7 семействам, 5 порядкам, 4 классам, 4 отделам. Доминировали грибоподобные организмы отдела *Oomycota* (13 видов, 48,1 %), вызывающие ложную мучнистую росу растений. Сравнительный анализ таксономического состава пораженных сорных растений и обнаруженных на них микромицетов позволил выявить возможные источники инфекции для растений, культивируемых в Беларуси.

Анализ видового состава чужеродных фитопатогенных микромицетов дал нам возможность вычленив 45 видов и внутривидовых таксонов инвайдеров, которые в агрофитоценозах и антропогенно нарушенных сообществах Беларуси способны вызывать максимальную интенсивность поражения растений (4 балла), т. е. приводит к эпифитотиям [3]. Отмеченные паразиты отнесены к 20 родам, 8 семействам, 7 порядкам, 6 классам, 4 отделам; доминируют представители отдела *Ascomycota* (21 вид, 46,7 %). Микромицеты, способные вызывать эпифитотии, зарегистрированы на дикорастущих и культивируемых покрытосеменных растениях 53 видов, 42 родов, 23 семейств.

В итоге проведенных исследований нами выявлено 138 видов чужеродных для Беларуси фитопатогенных микромицетов (65,1 % от общего числа проанализированных), которые зарегистрированы на урбанизированных территориях, включающих 27 городов и 3 городских поселка. Обнаруженные патогены принадлежат к 40 родам, 13 семействам, 8 порядкам, 7 классам, 4 отделам. Среди них доминируют представители отдела *Deuteromycota* – 91 вид (65,9 %). Другие отделы представлены следующим образом: *Oomycota* – 8 видов (5,8 %), *Ascomycota* – 22 вида (15,9 %), *Basidiomycota* – 17 видов (12,3 %). Распределение микромицетов по таксонам показало, что на урбанизированных территориях Беларуси преобладают чужеродные микромицеты класса *Coelomycetes* – 49 видов (35,5 %), порядков *Moniliales* и *Sphaeropsidales*, а также семейства *Sphaeropsidaceae* – по 42 вида (30,4 %), рода *Septoria* – 20 видов (14,5 %). Указанные микромицеты выявлены нами на двудольных и однодольных покрытосеменных растениях, относящихся к 114 видам, 95 родам, 41 семейству. Наиболее уязвимыми по отношению к фитопатогенам оказались представители семейства *Asteraceae* (23 вида, 20,2 %) – од-

ного из ведущих семейств флоры Беларуси. Многочисленными среди пораженных растений были также представители семейств *Rosaceae* (12 видов, 10,5 %), *Fabaceae*, *Ariaceae* и *Poaceae* (по 6 видов, 5,3 %). Следует отметить, что 96 видов (84,2 %) пораженных растений являются культивируемыми и используемыми в озеленении населенных пунктов Беларуси, а 111 видов (97,4 %) – чужеродными для нашей республики. Хозяева фитопатогенов принадлежат к 14 видам деревьев (12,3 %), 19 видам кустарников (16,7 %), 1 виду деревянистых лиан (0,9 %) и 80 видам травянистых растений (70,2 %), среди которых 46 одно- и двулетних (40,4 %), а также 34 многолетних (29,8 %) представителей.

Вышедшая в свет «Черная книга флоры Беларуси...» [4] побудила нас провести исследование для выявления фитопатогенных микромицетов, поражающих чужеродные растения флоры нашей республики. В результате установлено, что из 322 видов чужеродных растений, указанных в вышеназванном издании, фитопатогенные микромицеты были отмечены нами на растениях 182 видов (56,5 %), 128 родов, 37 семейств двудольных и однодольных покрытосеменных растений; максимальное количество питающих растений (38 видов, 20,9 %) принадлежало к семейству *Asteraceae*. Патогены относились к 228 видам и внутривидовым таксонам из 47 родов, 12 семейств, 8 порядков, 7 классов, 4 отделов. Из числа обнаруженных микромицетов к псевдогрибам отдела *Oomycota* принадлежали 46 видов (20,2 %), к грибам отдела *Ascomycota* – 63 вида (27,6 %), отдела *Basidiomycota* – 36 видов (15,8 %), отдела *Deuteromycota* – 83 вида (36,4 %). Среди отмеченных фитопатогенных микромицетов всего 92 вида и внутривидовых таксона (40,4 %) принадлежат к чужеродным для Республики Беларусь. Патогены остальных 136 видов и внутривидовых таксонов (59,6 %) являются аборигенными и, вероятно, расширили свою трофическую нишу, перейдя с аборигенных растений на чужеродные для нашей республики. Наибольшее количество патогенных микромицетов (185 видов и внутривидовых таксонов, 81,1 %) отмечено на 139 видах (76,4 %) слабоагрессивных чужеродных растений, обладающих инвазионным потенциалом на территории Беларуси; около трети из них (62 вида) принадлежит к чужеродным микромицетам. Зарегистрировано 44 вида и внутривидовых таксона патогенных микромицетов (19,3 % от общего количества выявленных) на 32 видах (17,6 %) чужеродных растений Черной книги флоры Беларуси, отнесенных к числу наиболее вредоносных; из них к чужеродным принадлежат 24 вида фитопатогенов. Наименьшее число патогенных микромицетов (19 видов и внутривидовых таксонов, 8,3 %) нами выявлено в пределах небольшой группы агрессивных чужеродных растений, обладающих инвазионным потенциалом на территории Беларуси (11 видов, или 6,0 %); чужеродные виды микромицетов на растениях этой группы представлены только 6 видами. Таким образом, имеющаяся в нашем распоряжении информация подтверждает, что чужеродные (в т.ч. инвазивные) виды растений для ряда фитопатогенов являются векторами их проникновения на новые территории. В значительной мере это микромицеты с высокой степенью паразитизма, строго приуроченные в своем развитии к растению-хозяину.

Полученные данные могут быть использованы для анализа динамики инвазионных процессов: оценки расширения круга растений-хозяев патогенов и распространения выявленных чужеродных микромицетов, а также прогноза их встречаемости в фитоценозах и интенсивности поражения растений. Приведенные сведения необходимо принимать во внимание при защите растений от болезней,

инвентаризации микобиоты Беларуси, написании пособий по фитопатогенным микромицетам, преподавании дисциплин микологического и фитопатологического профиля.

Список литературы

1. Поликсенова В.Д., Храмцов А.К. Чужеродные фитопатогенные микромицеты Беларуси. Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2. Химия. Биология. География. 2015; 3: 43-48.
2. Поликсенова В.Д., Джус М.А., Храмцов А.К. и соавт. Чужеродные растения и фитопатогенные микромице-

ты в Беларуси: реальная и потенциальная опасность. Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2. Химия. Биология. География. 2016; 3: 60-67.

3. Шуканов А.С., Стефанович А.И., Поликсенова В.Д., Храмцов А.К. Альгология и микология: летняя учебная практика: учебное пособие. Минск: БГУ, 2007: 199 с.
4. Дубовик Д.В., Дмитриева С.А., Ламан Н.А. и соавт. Черная книга флоры Беларуси: чужеродные вредоносные растения. Минск: Беларуская навука, 2020: 407 с.

НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПЕСТИЦИДАМИ САРДОБИНСКОГО РАЙОНА

Хусанов Т.С., Ахмедова З. Р., Яхяева М.А., Шонахунов Т.Э., Хамраева З.Т., Ибрагимов А.А., Жумаёров Ш.И.

Институт микробиологии Академии Наук Республика Узбекистана

В последние годы в связи с антропогенными факторами отмечаются случаи загрязнения сельскохозяйственных угодий различными вредными веществами. В особенности, «монокультура хлопка», чрезмерное применение многих ядохимикатов, дефолиантов и даже минеральных удобрений с целью получения высокого урожая, привели к радикальному изменению состояния почвы, достигнув уровня «мертвого состояния».

Поэтому количество и качество микроорганизмов в почве резко снизилось, накапливались излишки неорганических, органических и химических веществ. Среди них одним из самых негативных факторов является наличие пестицидов, тяжелых металлов и других веществ.

Остаточные количества пестицидов, тяжелых металлов и их солей в несколько раз превышают нормативные показатели. В сельском хозяйстве пестициды по-прежнему представляют собой ядохимикаты — химические вещества, дефолианты, десиканты, гербициды, инсектициды, применяемые для борьбы с вредителями и болезнями растений, сорняками, а также древесиной, изделиями из хлопкового волокна, шерсти, кожными вредителями и опасными возбудителями болезней домашних животных.

Они проникают в клетки живых организмов и изменяют их физические, химические и биохимические свойства. Вступая в химическую реакцию с белком и другими веществами клетки, он осаждает их, т. е. вызывает коагуляцию, ослабляет активность ферментов, вследствие нарушения процесса обмена веществ вызывает коллапс клетки, а в конечном итоге приводит к гибели [1].

Почва является основным объектом загрязнения окружающей среды, наличие остатков пестицидов в почве приводит к их накоплению в растениях. Также пестициды влияют на численность микроорганизмов в почве. Микроорганизмы устраняют основной вред пестицидов в почве, подвергаются деградации за счет своего ферментативного аппарата, видового разнообразия, позволяют частично или полностью использовать химические средства защиты растений.

Исследования последних лет показывают, что многие пестициды оказывают неоднозначное, часто негативное воздействие на почвенную биоту. Применение пестицидов может реконструировать экологическую обстановку в почве, изменить ее микробиоценоз, вызвать гибель некоторых

групп микроорганизмов и сделать часть из них склонными к синтезу фитотоксических веществ, одновременно усиливая негативное воздействие почвы на растения. и окружающей среды [2].

Многочисленное применение пестицидов приводит к изменению микробиологического баланса в почве и даже к исчезновению некоторых видов микроорганизмов. Следует отметить, что разная чувствительность некоторых видов и штаммов микроорганизмов определяет изменения в общей структуре почвенной ассоциации [3].

В результате происходит значительное снижение продуктивности сельскохозяйственных растений на загрязненных почвах, что требует проведения специальных агротехнических мероприятий и применения дополнительных минеральных удобрений [4].

Оценка роли микроорганизмов в поддержании и восстановлении плодородия почв, а также воздействия на них антропогенных факторов является важнейшей частью природоохранных мероприятий [5].

Незначительное количество пестицидов могут быть расщеплены некоторыми видами микроорганизмов. Так, например, микроорганизмы употребляющие аллиловый спирт входят *Nocardia sorallina*, *Azotobacter*, *Trichoderma vulgare* и др. Некоторые виды *Nocardia* используют в качестве источника углерода 4-феноксимасляную кислоту и 3,4-дихлорфеноксимасляную кислоту [6].

Во многих литературных исследованиях показано, что почвенные микроорганизмы подвергают пестициды микробиологической деградации [7]. На интенсивность микробиологической деградации пестицидов помимо биотических факторов, оказывают влияние абиотические факторы, среди которых рН среды, температура, влажность и характер адсорбции [8].

В ходе научного исследования, проведенного в лаборатории «Природоохранных биотехнологий» Института микробиологии УзР ФА, было изучено микробиологическое состояние проб почвы с пестицидами, взятых с сельскохозяйственных угодий и полей вокруг складов, где хранились некоторые пестициды, в Сардобинском районе Сырдарьинской области. Изучали физические и химические свойства почвы, разнообразие пестицидов присутствующих в почве. Были проведены научные исследования спектра разнообразия и роли микроорганизмов в их разложении.

Агрохимический анализ почвы аэродрома Акалтинского района Сырдарьинской области и прилегающей к нему территории до 500 м и далее показал, что взятые пробы почвы сильно засолены, загрязнены ядовитыми солями, а в связи с низким содержанием гумуса, высокое содержание минеральных элементов и тяжелых металлов, показало, что оно непригодно для выращивания сельскохозяйственных культур. Отмечено, что микробиологический пейзаж почвы аэродрома существенно отличается от микробиологического пейзажа соседних территорий. При этом изучались показатели сезонных изменений численности микроорганизмов в почве. Отмечено, что количество почвенных микроорганизмов бактерий, грибов и актиномицетов увеличивается весной и осенью, а летом их количество уменьшается. По результатам исследований их количества по классификации количество бактерий в почве высокое, грибов низкое, а актиномицетов немного больше, чем грибов.

В районе расположения бывшего склада пестицидов установлено наличие небольшого количества микроорганизмов, относящихся к бактериям, актиномицетам и грибам, и выделено из образцов почв 20 видов доминантных культур (бактерий, грибов, актиномицетов) устойчивых к данным условиям, и они были идентифицированы до рода и вида. При этом были выделены 3 представителя из рода *Bacillus*, 4 представителя из рода *Arthrobacter*, 3 представителя из рода *Pseudomonas* и по одному предста-

вителю из родов *Streptomyces*, *Lactobacillus*, *Saccharomyces*, *Staphylococcus*, *Kocuria*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Pediococcus*, *Acinetobacter*, *Providencia*. Среди изолятов, выделенных методом МАС-спектроскопии, важно изучить микроорганизмы, распространенные в пестицидных почвах этого региона. Среди выделенных культур определены хитиногидролизующая и антибиотическая активность в отношении распространенных фитопатогенов.

Обнаружены зоны гидролиза хитина изолятов актиномицетов, разлагающих хитин на минеральных твердых средах Чапека, содержащих хитин. Известно, что наружные панцири насекомых состоят из хитина, и против них применяют инсектициды. Имеются возможности использования хитиндеградирующих штаммов для обеспечения деградации этих используемых препаратов в почве.

В отобранных образцах почв было наблюдено ионы тяжелых металлов и солей, это превышало ПДК в несколько раз. Образцы почв из бывшего аэродрома Мирзабадского района оказались более загрязненными чем образцы Акалтинского района. Установлено что образцы почв Мирзабадского района входят по составу сульфатному типу с щелочными свойствами из за высокого содержания токсичных солей. Выяснилось, что 50 га этой площади уже 20 лет не используются из-за сильного загрязнения. Изучена устойчивость микроорганизмов, выделенных из этих почв, к фенолу и 2,4-динитрофенолу.

Таблица 1

Устойчивость почвенных микроорганизмов, выделенных на фенольных питательных средах

№	Изоляты	50 мг/л	100 мг/л	150 мг/л	200 мг/л	250 мг/л
	<i>Kocuria rosea</i>	+	-	-	-	-
	<i>Streptomyces sp</i>	+	+	+	-	-
	<i>Staphylococcus sp</i>	+	+	+	-	-
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	+	-	-	-	-
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	+	+	-	-	-
	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	-	-	-	-	-
	<i>Arthrobacter crystallopoietes</i>	+	+	-	-	-
	<i>Arthrobacter russias</i>	+	+	+	+	-
	<i>Citrobacter braakii</i>	-	-	-	-	-
	<i>Arthrobacter crystallopoietes</i>	+	-	-	-	-
	<i>Acinetobacter pittii</i>	+	+	-	-	-
	<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	+	-
	<i>Pseudarthrobacteroxydans</i>	-	-	-	-	-
	<i>Arthrobacter spp</i>	+	-	-	-	-
	<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	-	-
	<i>Pseudomonas xanthomarina</i>	+	-	-	-	-
	<i>Providencia rettgeri</i>	-	-	-	-	-
	<i>Pseudarthrobacterscleromae</i>	+	+	-	-	-
	<i>Bacillus anthracis Wirt 01</i>	+	+	+	+	-

В таблице показана устойчивость роста ассоциации микроорганизмов, выделенных с участков загрязненных пестицидами почв, на фенолсодержащей пищевой среде. Где наблюдалась хороший рост штаммов *Streptomyces sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Arthrobacter rossia*, *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis Wirt 01*.

Бактерии более активны в разложении растворимых пестицидов, в то время как микроскопические грибы более активны в разложении малорастворимых пестицидов. Срок разрушения пестицидов микроорганизмами может колебаться от нескольких дней до нескольких месяцев, а иногда и до десятков лет, в зависимости от химического

состава вещества, видов микроорганизмов, свойств почвы (температура, аэрация и др.).

Можно сделать вывод, что целью выделения и изучения вышеперечисленных штаммов является создание на их основе биопрепаратов, усиление деградации пестицидов в почве, улучшение состояния почвы для роста и развития растений и разработать меры по расширению посевных площадей.

Список литературы

1. Умаров Н.Н. Шукуров Т. Абдуллаев С.Ф. Влияние пестицидов на содержание тяжелых металлов и молекулярную динамику растительных природных соединений. Журнал "Химические науки" Экосистемы 2020
2. Бахранов Г. М. "Загрязнение почв тяжелыми металлами и влияние на окружающую среду" Журнал "Науки о Земле и смешанные экологические науки" Академические исследования в области педагогических наук 2021
3. Евдакова М.В. Воздействие пестицидов на микрофлору почвы журнал "Экологические биотехнологии" Научный журнал *molodux uchenyx* 2018
4. Прищепина И.А. "Влияние минеральных удобрений на эффективность пестицидов и ретарданов, применяемых на посевах зерновых колосовых культур" Журнал Вестник защиты растений 2000
5. С.А. Шоби, А.С. Яковлева, Н.Г. Рыбальского Экологическое нормирование и управление качеством почв и земель ниа-Природа Москва – 2013
6. Рыбкина и др., 2003 г. Каталитические, сорбционные, микробиологические и интегративные методы защиты и оздоровления окружающей среды. Новосибирское издательство сибирского отделения Российской Академии Наук 2013
7. Я. А. Дегтярева, И. А. Япаров, А. Да. Давлешина, Т. Ю. Мотина, С. К. Зарипова "Оценка влияния пестицидов различного назначения по отношению к консорциуму микроорганизмов-деструкторов" ЖУРНАЛ "Экологические биотехнологии" Владимирский земледелец 2019
8. Хмелевская Мария Сергеевна Ахрамович Татьяна Игоревна, Игнатовец Ольга Степановна, Леонтьев Виктор Николаевич, Феськова Елена Владимировна Естественные пути деградации пестицидов на основе 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты "Экологические биотехнологии" ЖУРНАЛ Труды БГТУ. Серия 2: Химическая технология, биотехнология, геоэкология 2016.

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ ДРЕВЕСНЫХ СУБСТРАТОВ АРКТИКИ (АРХИПЕЛАГ ЗЕМЛЯ ФРАНЦА-ИОСИФА)

Кирицели И.Ю.¹, Панькова И.Г.¹, Ильюшин В.А.¹, Власов Д.Ю.^{1,2}, Зеленская М.С.², Гаврило М.В.³

¹ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия;

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

³Арктический и антарктический НИИ, Санкт-Петербург, Россия

Если разрушение древесины в экосистемах умеренных и тропических зонах, вызываемые грибами белой и бурой гнили, имеют большое научное и практическое значение и широко освещались и освещаются в научной литературе, то отсутствие в высокой Арктике аборигенных высших растений с лигноцеллюлозой теоретически должно приводить к отсутствию грибов вызывающих разрушение древесины. Также экстремальные условия Арктики и Антарктике ограничивают развитие и распространение данных групп грибов. Однако даже в высоких широтах отмечено некоторое количество древесины, используемой для строительства или привнесенной морем (плавник). Информация о разложении древесины в высоких широтах крайне ограничена. Бланшетте с соавторами (1) на примере Канадских островов показали, что основной тип гниения древесины, обнаруженный в деревянных постройках Арктики, является «мягкой гнилью», вызываемая Ascomycota. Подобный тип гниения древесины был также отмечен в Антарктиде, и рассмотрен на примере исторических хижин. Развитие «мягкой гнили» может происходить в экстремальных условиях Арктики и Антарктики, которые, по-видимому, препятствуют росту базидиомицеты, но эти неблагоприятные условия не ограничить колонизацию и разложение древесины микроскопическими грибами (2 - 6). Происхождение микроскопических грибов, развивающихся на древесине в высоких широтах также представляет интерес, т.к. грибы, вызывающие разрушение древесины в Арктике могут является аборигенными почвенными или вторично водными изолятами, попадать с товарной антропогенно привнесенной древесиной. Отдельным пунктом, стоит вопрос сохранения жизнеспособности организмов грибов (как Аскомицетов, так и Базидиомицетов) при длительном нахождении на древесине плавника в во-

дах Северного Ледовитого океана. Сохранение жизнеспособности грибов на древесине плавника может свидетельствовать о том, что более южные виды могут находиться в Арктических экосистемах.

Нами был исследованы микроскопические грибы на древесине ЗФИ (88 образцов). Образцы древесины, как плавник (48 образцов), так и антропогенно привнесенная древесина (40 образцов), отбирались в летний период 2021 года на островах архипелага ЗФИ (о. Хейса, о. Королевского общества, о. Джексона, о. Земля Георга, о. Белл, о. Нортбрук Западный, о. Ева-Лив, о. Гогенглоз, о. Гуккера, о. Рудольфа).

Использование метода сканирующей микроскопии показало, что развитие микроскопических грибов активно происходит как на поверхности, так и в глубинных слоях древесины. Отмечен рост мицелия между сохранившимися волокнами целлюлозы. На поверхности древесины локально формируется спороношение микромицетов. Грибки мягкой гнили поражают поверхность древесины, а затем постепенно прорастают в древесину (7).

Был определен видовой состав и таксономическое разнообразие комплексов микроскопических грибов. Выделено и идентифицировано 54 вида. На антропогенно-привнесенной древесине отмечено 42 видов, на древесине плавника 28 видов. Общими являлись 16 видов.

Отдел *Mucoromycota* представлен только 3 видами, которые были отмечены единичными находками. Отдел *Basidiomycota* представлен 5 видами грибов, что согласуется с литературными данными о встречаемости базидиомицетов в полярных экосистемах (8). Авторы отмечали, что чаще всего в таких условиях выявляются дрожжевые грибы с базидиомицетным аффинитетом.

Большинство выделенных нами видов относятся к отряду Ascomycota (46 видов). Наиболее высокой была доля микромицетов из родов *Cadophora*, *Pseudogymnoascus*, *Cladosporium*, *Thelebolus*, *Phoma* и *Didymella*. Виды *Cadophora* (4 вида) были самыми многочисленными из всех Ascomycota. Они были обнаружены в 47% образцов. Известно, что виды этого рода вызывают мягкую гниль в различных полярных экосистемах (9). Их высокая частота встречаемости в нашем исследовании показывает, что они широко распространены на древесине и, вероятно, представляют собой важную группу аборигенных изолятов вызывающих разложение древесины и хорошо приспособленных к экстремальным арктическим условиям.

Было проведено исследование лигнинолитической, целлюлозолитической и амилазной активности, выделенных изолятов. Результаты исследования ферментативной активности изолятов показали, что для большинства из них характерно наличие амилазной активности (отмечены у 63% исследованных изолятов) При этом наиболее выраженная амилазная активность наблюдалась у изолятов *Alternaria alternata*, *Cadophora luteo-olivacea*, *Pseudogymnoascus pannorum*.

Наличие целлюлозолитической активности отмечена у 85% исследованных изолятов. При этом наиболее значительно выраженная целлюлозолитическая активность наблюдалась у *Alternaria alternata*, *Cadophora luteo-olivacea*, *Cadophora malorum*, *Phoma leveillei*, *Pseudogymnoascus pannorum*. Лигнинолитическая активность отмечена у 53% исследованных изолятов. Наиболее активно она проявилась у *Cladosporium herbarum*, *Cadophora malorum*, *Pseudogymnoascus pannorum*. Но если доля (%) изолятов обладающих целлюлозолитической и амилазной активностью не сильно отличается от аналогичных показателей для почвенных микроскопических грибов, то сравнительно высокая доля изолятов обладающих лигнинолитической активностью свидетельствует о селективирующем влиянии древесного субстрата на формирование комплексов микроскопических грибов.

Спектры ферментативной активности изолятов одного вида могут варьировать. Этот факт свидетельствует об экологической неоднородности популяций микромицетов выделенных на древесных субстратах в Арктике.

Большинство исследованных образцов представляли собой древесину хвойных пород деревьев, которые не произрастали в естественных условиях ЗФИ. Наши исследования показывают, что Ascomycota широко распро-

странены на древесине в высокой Арктике, и что мягкая гниль может наносить значительный ущерб древесным субстратам в условиях климатического пессимума. Часть видов может переходить на деловую древесину в арктических поселениях, вызывая ее биодеструкцию. Изучаемые дерево-разрушающие грибы являются частью естественного процесса деградации древесины в Арктике. Низкая скорость процессов разложения древесины возможно связана с короткими периодами положительных температур в летний период.

Список литературы

1. Blanchette R.A., Held B.W., Jurgens J., Stear A., Dupont C. Fungi attacking historic wood of Fort Conger and the Peary Huts in the High Arctic. PLoS ONE. 2021. 16(1): e0246049. doi.org/10.1371/journal.pone.0246049
2. Blanchette R.A., Held B.W., Jurgens J., McNew D.G., Stear A., Thomas C. Wood-Destroying Soft Rot Fungi in the Historic Expedition Huts of Antarctica. Applied and environmental microbiology. 2004. 70 (3):1328–1335. doi: 10.1128/AEM.70.3.1328–1335.2004
3. Held B. W., Blanchette R. A. Deception Island Antarctica harbors a diverse assemblage of wood decay fungi. Fungal Bio. 2017.121: 145–157. doi.org/10.1016/j.funbio.2016.11.009
4. Pang K., Chow R., Chan C., Vrijmoed L. Diversity and physiology of marine lignicolous fungi in Arctic waters: a preliminary account. Polar Research. 2011. 30. 5859e5863
5. Mattsson J., Flyen A.-C., Nunez M. Wood-decaying fungi in protected buildings and structures on Svalbard. Agarica. 2010. 29:5–14.
6. Blanchette R. A., Held B. W., Hellmann L., Millman L. Arctic driftwood reveals unexpectedly rich fungal diversity. Fungal Ecol. 2016. 23:58–65. doi.org/10.1016/j.funeco.2016.06.001.
7. Eriksson K. E., Blanchette R. A., Ander P. Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. 1990. Berlin. Springer-Verlag.
8. Arenz B., Blanchette R.A., Farrell R.L. Fungal Diversity in Antarctic Soils. In Antarctic Terrestrial Microbiology: Physical and Biological Properties of Antarctic Soils. editor Cowan D., 2014. Springer, Berlin.
9. Arenz B. E. and Blanchette R. A. Investigations of fungal diversity in wooden structures and soils at historic sites on the Antarctic Peninsula. Can J. Microbiol. 2009. 55: 46–56. doi.org/10.1139/W08-120.

ГРИБЫ И БАКТЕРИИ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ЗАБОЛОННИКОМ ЯРОШЕВСКОГО (SCOLYTUS JAROSCHEWSKII SCHEVYREW) В ЛОХОВНИКАХ САМУРСКОГО ЛЕСА (РЕСПУБЛИКА ДАГЕСТАН)

Колганихина Г.Б.¹, Пантелеев С.В.², Петров А.В.¹

¹Институт лесоведения РАН, с. Успенское Московской области

²Институт леса НАНБ, Гомель, Республика Беларусь

В некоторых районах средней Азии и Кавказа разные исследователи неоднократно отмечали случаи массового усыхания лоха, сопровождавшиеся интенсивным заселением гибнущих деревьев заболонником Ярошевского (*Scolytus jaroschewskii* Schevyrew), при этом природа заболевания, вызывающего отмирание растений, не изучалась (Петров и др., 1994). На юге Дагестана усыхание деревьев лоха узколистного (*Elaeagnus angustifolia* L.) в лоховниках гребенщиконых и разнотравных, произрастающих в дельте р. Самур, наблюдается с 1979 г. [1, 2]. Позднее, после обна-

ружения в отмирающих ветвях патогенных бактерий рода *Pseudomonas Migula*, основной причиной текущего патологического отпада лоха стали считать сосудистый бактериоз [3]. Отмечалось, что болезнь приводит к усыханию отдельных ветвей или всего дерева в течение одного или двух лет. Было высказано предположение о формировании ассоциативного комплекса заболонника Ярошевского с высоко вирулентными патогенными бактериями, который способствует массовому заражению деревьев и распространению заболевания. Изучение биологических особенностей этого

короеда показало, что проникновение инфекции в проводящие ткани жизнеспособных деревьев лоха может происходить как при построении самками жука маточных ходов, так и при дополнительном питании имаго. Однако специальные исследования по изучению трансмиссивности патогенов жуками заболонника Ярошевского не проводилось. Также следует отметить, что в тот период не был изучен комплекс грибных патогенов лоха, среди которых могли оказаться виды, вызывающие заболевания по внешним признакам сходные с вилтом [4, 5]

Энтомологические и фитопатологические исследования по проблеме усыхания лоха на юге Дагестана были возобновлены нами в 2020 г. и продолжаются по настоящее время. В данной работе обсуждаются предварительные результаты изучения разнообразия микробиома заболонника Ярошевского, полученные при проведении метагеномного анализа жуков, собранных на территории национального парка «Самурский», являющегося частью Государственного природного заповедника «Дагестанский». Данное исследование проведено с целью выявления ассоциируемых с этим короедом патогенных микроорганизмов, способных приводить к усыханию деревьев лоха. Метагеномный анализ микробиомов жуков проводился на основании диагностики размеров локуса ITS1 (внутреннего транскрибируемого спейсерарибосомального оперона) микромицетов и T-RFLP-анализа (с использованием Met праймеров и рестриктазы AluI) в случае бактерий. Видовая идентификация доминирующих видов микроорганизмов была основана на сравнительном анализе данных секвенирования рДНК с депозитами, представленными в международной базе данных NCBI GeneBank [6 - 8]. Названия грибов приводятся согласно международной базе данных «MycBank» (2022).

Изучение электрофоретических спектров 22 образцов жуков *Scolytus jaroschewskii* позволило выявить в отдельных экземплярах от 2 до 28 видов грибов (в среднем 14). В общей сложности в метагеномах жуков зафиксировано 94 вида грибов, из которых на текущий момент идентифицирован 41 таксон. Ниже в алфавитном порядке приведены их названия с указанием встречаемости (%) в исследованных образцах жуков: *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (19.5), *Aspergillus flavus* Link (7.3), *Aspergillus pseudoglaucus* Blochwitz (14.6), *Aspergillus sydowii* (Bainier & Sartory) Thom & Church (12.2), *Aureobasidium pullulans* (De Bary) G. Arnaud (17.1), *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. (2.4), *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst. (7.3), *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries (29.3), *Cladosporium sp. herbarum species complex* (2.4), *Clonostachys rosea* (Link) Schroers, Samuels, Seifert & W. Gams (17.1), *Cosmospora sp.* (12.2), *Diaporthe eres* Nitschke (9.8), *Dothiora sp.* (4.9), *Epicoccum nigrum* Link (19.5), *Erysiphe sp.* (9.8), *Eutypa sp.* (12.2), *Eutypella sp.* (4.9), *Exophiala sp.* (2.4), *Filobasidium wieringae* (Á. Fonseca, Scorzetti & Fell) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout (4.9), *Fusarium sp. incarnatum-equiseti species complex* (2.4), *Fusarium oxysporum* Schltdl. (9.8), *Fusarium sp. tricinctum species complex* (7.3), *Gliomastix tumulicola* (Kiyuna, An, Kigawa & Sugiy.) Summerb. (9.8), *Meyerozyma guilliermondii* (Wick.) Kurtzman & M. Suzuki (7.3), *Nakazawaea sp.* (17.1), *Nakazawaea wyomingensis* (Kurtzman) Kurtzman & Robnett (17.1), *Ophiostoma sp.* (17.1), *Penicillium sp.* (4.9), *Penicillium sizovae* Baghd. (4.9), *Phaeoacremonium hungaricum* Essakhi, Mugnai, Surico & Crous (7.3), *Phoma sp. 1* (4.9), *Phoma sp. 2* (14.6), *Phoma sp. 3* (14.6), *Phomopsis sp. 1* (4.9), *Phomopsis sp. 2* (7.3), *Saccharomycetes* (9.8), *Stilbocrea sp.* (29.3), *Symmetrospora coprosmae* (Hamamoto & Nakase) Q.M. Wang, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout (9.8),

Trichothecium roseum (Pers.) Link (21.9), *Uncultured Exophiala* (2.4), *Wickerhamomyces sp.* (12.2).

В составе микробиомов исследованных жуков по числу идентифицированных грибных таксонов существенно преобладают сумчатые грибы (*Ascomycota*), 3 вида (*Bjerkandera adusta*, *Filobasidium wieringae* и *Symmetrospora coprosmae*) являются представителями базидиальных грибов (*Basidiomycota*).

Выявленные таксоны весьма разнообразны в экологическом отношении. Среди них отмечены неспецифичный энтомопатогенный гриб *Beauveria bassiana* и микотрофные грибы (*Cosmospora sp.*, *Filobasidium wieringae*). Многие из выявленных видов развиваются сапротрофно на растительных и других субстратах, в их числе: *Aspergillus spp.*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium spp.*, дрожжеподобные грибы из класса *Saccharomycetes* (*Nakazawaea spp.*, *Wickerhamomyces sp. u др.*), *Clonostachys rosea*, *Exophiala sp.*, *Fusarium sp. incarnatum-equiseti complex*, *Gliomastix tumulicola*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Penicillium sizovae*, *Stilbocrea sp.*, *Symmetrospora coprosmae*. Такие грибы, как *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sp. tricinctum species complex*, *Penicillium sp.*, *Trichothecium roseum*, могут проявлять патогенные свойства и причинять вред сельскохозяйственным культурам. Некоторые виды способны развиваться на ослабленных живых деревьях (*Bjerkandera adusta*) и отмирающих частях растений (*Epicoccum nigrum*).

В числе предполагаемых патогенных грибов следует отметить *Phaeoacremonium hungaricum*. Этот вид был выделен из образцов виноградной лозы (*Vitis vinifera* L.) с внешними симптомами эски, проявляющейся в увядании растений и поражении древесины [9]. Также в метагеномах жуков зафиксировано несколько таксонов (*Dothiora sp.*, *Eutypa sp.*, *Eutypella sp.*, *Ophiostoma sp.*, *Phoma sp.*, *Phomopsis spp.*), относящихся к родам, представители которых могут являться возбудителями некрозных, раковых и сосудистых заболеваний древесных растений. Некоторые виды *Phomopsis* известны как патогены лоха [10 - 12]. Наряду с этими грибами в образцах короеда обнаружен гриб *Diaporthe eres*. Этот вид является политрофным, он колонизирует разные лесные растения и плодовые культуры [12, 13]. Образование опоясывающих язв вследствие развития этого гриба в тканях пораженных ветвей и стволов приводит к усыханию части кроны растения, которое внешне может выглядеть подобно вилту. *Diaporthe eres* формирует пикнидиальные анаморфы типа *Phomopsis*. Выявленные в образцах виды *Phomopsis* генетически отличны от *Diaporthe eres*. Заболевание, вызванное *Diaporthe eres*, может наносить ущерб как природным экосистемам, так и коммерческим культурам [13]. Согласно литературным данным важность способа распространения насекомыми спор *Diaporthe* и *Phomopsis* для большинства таксонов этой группы неизвестна [12]. Указанные выше потенциально значимые грибные патогены зафиксированы нами не только в метагеномах исследованных жуков заболонника Ярошевского, но также были обнаружены в образцах ветвей лоха, поврежденных этим короедом. Полученные результаты подтверждают трансмиссивность *Diaporthe eres* и других потенциально значимых патогенов жуками *Scolytus jaroschewskii* в лховниках Самурского леса. Заражение растений во время дополнительного питания короеда и заселения им ветвей лоха способствует увеличению патологического отпада.

В составе микробиомов жуков отмечены эндосимбиотическая бактерия *Candidatus Sodalis pierantonius* и сапротрофная бактерия *Sphingomonas sp.*, в одном об-

разце также зафиксирована азотфиксирующая бактерия *Rhizobium* sp. Патогенных видов бактерий, ассоциируемых с увяданием ветвей лоха, в исследованных экземплярах *Scolytus jaroschewskii* нами не выявлено.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и БРФФИ в рамках научного проекта № 20-54-00045.

Список литературы

1. Кузьмичев Е.П., Петров А.В. Сосудистый микоз лоха и роль заболонника Ярошевского в распространении заболевания // Матер. 2-й Всесоюз. науч.-техн. конф. «Охрана лесных экосистем»: Тез. докл. Ч. 1. М.: МЛТИ, 1991. С. 145–147.
2. Петров А.В. Биология заболонника Ярошевского в южном Дагестане // Экология и защита леса. СПб., 1992. С. 99–102.
3. Петров А.В., Кузьмичев Е.П. Усыхание лоха на западном побережье Каспия под влиянием заболонника Ярошевского и патогенной микрофлоры // Лесоведение. 1994. 1994. № 3. С. 48–53.
4. Krupinsky J.M., Walla J.A. Tubercularia Cancer of Siberian Elm and Russian-Olive // Disease of trees in the Great Plains. Fort Collins, Colo, 1986. VI. P. 40–41.
5. Колганихина Г.Б. Грибные болезни и их роль в усыхании лоха остроплодного // Лесоведение. 1998. № 4. С. 58–66.
6. Баранов О.Ю., Иващенко Л.О., Пантелеев С.В., Колганихина Г.Б., Сазонов А.А. Сравнительная оценка структуры микобиомов фитофагов дуба черешчатого на основе данных фрагментного анализа локуса ITS1 // Проблемы лесоведения и лесоводства. Сб. науч. тр. ИЛ НАН Беларуси. Вып. 81. Гомель: ИЛ НАН Беларуси, 2021. С. 126–134.
7. Иващенко Л.О., Пантелеев С.В., Баранов О.Ю., Колганихина Г.Б., Романенко М.О., Ярмолович В.А. Молекулярно-генетическая идентификация доминирующих видов в микобиомах насекомых-фитофагов лиственных пород // Лесное хозяйство: матер. 85-й науч.-техн. конф. проф.-препод. состава, науч. сотр. и аспирантов, Минск, 1-13 февр. 2021 г. [Эл. ресурс]. Минск: БГТУ, 2021. С. 125–127.
8. Saikaly P.E., Stroot P.G., Oerther D.B. Use of 16S rRNA gene terminal restriction fragment analysis to assess the impact of solids retention time on the bacterial diversity of activated sludge // Appl. Environ. Microbiol. Journal. 2005. 71(10). P. 5814–5822.
9. Essakhi S., Mugnai L., Crous P.W., Groenewald J.Z., Surico G. Molecular and phenotypic characterisation of novel *Phaeoacremonium* species isolated from esca diseased grapevines. *Persoonia*. 2008. 21: 119–134. doi:10.3767/003158508X374385
10. Morton H.L., Krupinsky J.M. Phomopsis Canker of Russian-Olive. Disease of trees in the Great Plains. Fort Collins, Colorado, 1986. VI. P. 44–45.
11. Farr D.F., Bills G.F., Chamuris G.P., Rossman A.Y. Fungi on plants and plant products in the United States. APS Press - American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA. 1989. 758 p.
12. Sinclair W.A., Lyon H.H. Diseases of trees and shrubs / 2nd edition. Ithaca and London: Comstock publishing associates, a division of Cornell University press, 2005. 660 p.
13. CABI / Invasive Species Compendium / Diaporthe (apple leaf, branch and fruit fungus). 2022. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/18731> (дата обращения: 17.05.2022).

ПОЧВЕННЫЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ КОНСТРУКТОЗЕМОВ В ГОРОДАХ РАЗНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ЗОН

Корнейкова М.В.^{1,2}, Никитин Д.А.³, Васильева М.Н.¹, Васнев В.И.⁴

¹Российский университет дружбы народов, Москва
²Институт проблем промышленной экологии Севера – обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ КНЦ РАН, Апатиты

³Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва

⁴Университет Вагенингена, Нидерланды

Урбанизация неизбежно приводит к необратимым изменениям состояния экосистем во всем мире. В то же время обеспечение устойчивого развития городов – одна из целей концепции устойчивого развития и приоритетная задача современности и ближайшего будущего. Среди высокого разнообразия городских почв особый интерес представляют почвенные конструкции (конструктоземы), созданные человеком для решения определенных задач: озеленения, благоустройства, рекультивации. Для них характерны изначально заданные параметры строения (время создания, типы субстратов, мощность и последовательность горизонтов), что позволяет прогнозировать динамику их экологических функций в меняющихся условиях городской среды. Газоны являются неотъемлемой частью городской зеленой инфраструктуры – они широко распространены практически в любых климатических условиях и покрывают до половины открытых городских территорий (Hedblom, 2017; Dvornikov et al., 2021). Состояние почвенного микробного сообщества является определяющим фактором в развитии

экосистем. Микроорганизмы быстро реагируют на внешние воздействия и являются индикаторами происходящих в экосистемах изменений (Domch et al., 2007). В настоящей работе уделено внимание почвенной микобиоте, поскольку микромицеты в значительной степени определяют здоровье почвы (Rao et al., 2019), а деятельность сапротрофных микроскопических грибов может приводить к улучшению почвенных свойств, связанных с ее плодородием (Henderson et al., 2017).

Целью исследования являлась оценка количественных показателей почвенных грибных сообществ конструктоземов 2-х летнего возраста, созданных на основе торфа, песка и суглинка, в разных климатических зонах в сравнении с фоновыми почвами.

Объекты и методы

Исследования проводили в городах, расположенных в разных климатических зонах: субарктической (г. Апатиты), умеренно-континентальной с влажным климатом (г. Мо-

сква) и умеренно-континентальной с сухим климатом (г. Ростов – на – Дону).

Отбор почвенных образцов проводили на стационарах с почвенными конструкциями универсального для всех регионов состава: торф/песок/суглинок в соотношении 1/1/1. Эти виды субстратов достаточно часто используются для создания конструкторов, особенно в Московском регионе, который наиболее изучен в вопросе создания техносолей (Брянская и др., 2020; Ivashchenko et al., 2021). Для создания газонного покрытия использовали травосмесь райграса многолетнего (*Lolium perenne*) 30%, овсяницы красной (*Festuca rubra*) 35% и мятлика лугового (*Poa pratensis*) 35% с нормой высева 60 г/м². Агротехнические мероприятия включали внесение минерального удобрения азофоска в дозе 60 г/м² и активный полив на всех участках. В северных условиях при создании почвенных конструкций вносили доломитовую муку в количестве 300 г/м² для снижения кислотности почвы.

Биомассу грибов определяли методом люминесцентной микроскопии с применением флуоресцентного красителя калькофлуора белого. Учет спор и длины мицелия осуществляли на люминесцентном микроскопе «Биомед 5 ПР ЛЮМ» (Россия) при увеличении 400х. Десорбцию клеток с почвы проводили при помощи вортекса «MSV-3500» (Латвия) при скорости 3500 об/мин в течении 10 мин.

Расчет грибной биомассы (мг/г почвы) осуществляли, полагая, что плотность спор равна 0.837 г/см³, а плотность мицелия – 0.628 г/см³ (Полянская, Звягинцев, 2005). Содержание грибной биомассы на грамм сухой почвы рассчитывали с учетом ее влажности.

Количественную оценку содержания рибосомальных генов грибов осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с использованием праймеров на регион ITS. Реакцию проводили в амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (“Bio-Rad”). Реакционную смесь готовили из препарата SuperMix Eva Green (“Bio-Rad”). В качестве количественных стандартов концентрации генов использовали растворы клонированных фрагментов рибосомального оперона штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Meyen 1B-D1606. Концентрацию генов рассчитывали с помощью программного обеспечения CFX Manager. Количество генов в препаратах ДНК пересчитывали на грамм почвы с учетом разведений и массы навески.

Результаты и обсуждения

Биомасса грибов в конструкторах разных климатических зон изменялась от 0.073 до 0.790 мг/г почвы. Наименьшая биомасса отмечена в конструкторах Ростова-на-Дону - 0.078 мг/г почвы, наибольшая в Апатитах – 0.2473 мг/г почвы. Для фоновых почв также максимальная биомасса отмечена для субарктической зоны. Здесь показатели достигали 0.790 мг/г почвы. По показателю биомассы наиболее близки к фону конструктора Ростова-на Дону, для московского региона биомасса грибов в 2 раза ниже, в Апатитах – почти в 3.5 раза ниже, чем на фоновом участке.

Доля мицелия – активного компонента грибной биомассы – в изученных образцах сильно варьировала от 43.6 до 87.1%. Наименьшая доля мицелия (43-45%) отмечена для почв Ростова-на-Дону, а наибольшая (60-87%) – для почв Апатитов. Доля мицелия в биомассе грибов для почв Москвы изменялась от 55 до 69%. Длина мицелия грибов различалась от десятков до сотен метров на грамм почвы. Минимум мицелия (25-27 м/г почвы) также обнаружен в почвах Ростова-на-Дону, а максимум (118 и 544 м/г почвы) – в почвах Апатитов. Средние значения длины мицелия микобиоты характерны для почв Москвы – 41 и 105 м/г по-

чвы. Доминирование мицелиальных форм на севере и его минимальное количество на юге можно объяснить типом природной зоны, в котором находятся объекты исследования (северная тайга и степь соответственно), преобладающей растительностью, а также влажностью почвы. Доля тонкого (менее 3 мкм в диаметре) мицелия грибов исследованных почв была относительно велика (до 41 %) в почвах Ростова-на-Дону. Существенно меньше доля тонких гиф грибов в почвах Москвы и Апатитов – 20 и 32% соответственно. Для всех изученных образцов, численность одноклеточных грибных пропагул (спор и дрожжей) составляла 104 клеток/г почвы. Однако в конструкторах Апатитов их количество достигало 105 клеток/г почвы. Высокая доля тонкого мицелия в почвах может указывать на стрессовое состояние сообщества микобиоты в экстремальных климатических условиях (Марфенина и др., 2016). Базидиомицетный пряжковый мицелий грибов обнаруживали редко (около 7-10% от всех гиф), и только в зоне субарктики. Такой факт косвенно может свидетельствовать о низком количестве микоризных симбиозов (Фомичева и др., 2006).

Большая часть (от 79.6 до 100%) пропагул микобиоты представлена экземплярами мелких размеров в 2-3 мкм. Наименьшая доля мелких пропагул (79.6-86.9%) выявлена в почвах Апатитов. Исследованные почвы Москвы и Ростова-на-Дону имели примерно одинаковую долю мелких пропагул микобиоты – 93.3-100% и 95.6-100% соответственно. Численность крупных пропагул (5 и более мкм) составляла порядка 103 кл/г почвы в Апатитах и сотен клеток в образцах Москвы и Ростова-на-Дону.

Численность копий рибосомальных генов ITS рРНК грибов в изученных почвах изменялась от 5.95×10⁸ копий генов/г почвы в конструкторах Апатитов, до 3.39×10⁹ копий генов/г почвы в фоновой почве московского региона. Численность копий рибосомальных генов ITS рРНК грибов в конструкторах в городах разных климатических зон отличалась не существенно. Наименьшей она была в субарктике (5.95×10⁸ копий генов/г). В Москве и Ростове-на-Дону данный показатель был примерно на одном уровне (1.19×10⁹. 1.39×10⁹ копий генов/г). Максимальное количество копий генов грибов выявлено в фоновой почве московского региона (3.3×10⁹ копий генов/г). В Апатитах и Ростове-на-Дону в фоновой почве количество копий генов составило 6.58×10⁸ и 8.55×10⁸ копий генов/г соответственно. По количественному содержанию копий генов грибов за двухлетний период конструктора Ростова -на- Дону соответствуют фоновым почвам и немного превышают значения последних. В субарктике значения данного показателя также сопоставимо для конструкторов и фоновых почв, тогда как в Москве численность копий генов конструкторов в 2.5 раза меньше.

Таким образом, изученные количественные показатели почвенных грибных сообществ конструкторов двухлетнего возраста и фоновых почв продемонстрировали неоднозначный результат, что позволяет говорить лишь о тенденциях в формировании микробного сообщества в конструкторах разных климатических зон за данный период времени. Так, почвы субарктической зоны характеризовались наибольшей биомассой и длиной грибного мицелия, почвы южного района – минимальной. Однако последние за двухлетний период максимально приблизились как по биомассе, так и по количеству копий генов грибов к фоновым аналогам, тогда как конструкторы субарктики были близки к фону только по количеству копий генов, а по показателю биомассы существенно ниже. Вероятно, почвенные грибные сообщества за достаточно короткий пери-

од (2 года) находятся все еще в нестабильном состоянии, и специфика применяемых методов влияет на результат.

Работа выполнена при поддержке проекта РФФИ #19-29-05187.

Список литературы

- Hedblom, M. Estimating urban lawn cover in space and time: Case studies in three Swedish cities, *Urban Ecosystems*, 2017, 20 (5). doi: 10.1007/s11252-017-0658-1.
- Dvornikov, Y. A. et al. Projecting the urbanization effect on soil organic carbon stocks in polar and steppe areas of European Russia by remote sensing, *Geoderma*, 2021, 399. doi: 10.1016/j.geoderma.2021.115039.
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H. *Compendium of Soil Fungi*. IHW-Verlag, Eching, 2007.
- Rao D.L.N., Aparna K., Mohanty S.R. Microbiology and biochemistry of soil organic matter, Carbon Sequestration and Soil Health // *Ind. J. Fertil.* 2019. V. 15. P. 124–138.
- Henderson L., Lilje E., Robinson K., Gleason F., Lilje O. Effects of toxic metals on chytrids, fungal-like organisms, and higher fungi // *The Fungal Community: Its Organization and Role in the Ecosystem*. 2017. No 16. 433 p.
- Брянская, И. П., Васенев В. И., Брыкова Р. А., Маркелова В. Н., Ушакова Н. В., Госсе Д. Д., Гавриленко Е. В., Благодатская Е. В. Анализ ввозимых почвогрунтов для прогнозирования запасов углерода в почвенных конструкциях московского мегаполиса. // *Почвоведение*. 2020 no. 12: 1537–1546. <https://doi.org/10.31857/s0032180x20120047>.
- Ivashchenko, K., Lepore E., Vasenev V., Ananyeva N., Demina S., Khabibullina F., Vaseneva I., et al. Assessing Soil-like Materials for Ecosystem Services Provided by Constructed Technosols. // *Land*. 2021.10 (11): 1185. <https://doi.org/10.3390/land10111185>.
- Полянская Л.М., Звягинцев Д.Г. Содержание и структура микробной биомассы как показатели экологического состояния почв // *Почвоведение*. 2005, 6. С. 706–714.
- Марфенина, О. Е., Никитин, Д. А., & Иванова, А. Е. Структура грибной биомассы и разнообразие культивируемых микромицетов в почвах Антарктиды (станции Прогресс и Русская). *Почвоведение*, 2016, 8. С. 991-999. DOI: 10.7868/S0032180X16080074
- Фомичева О.А., Полянская Л.М., Никонов В.В., Лукина Н.В., Орлова М.А., Исаева Л.Г., Звягинцев Д.Г. Численность и биомасса почвенных микроорганизмов в коренных старовозрастных северо-таежных еловых лесах. *Почвоведение*. 2006, 12. С. 1469-1478.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ *ASPERGILLUS NIGER*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОБРАЗЦОВ ПУСТЫННЫХ ПОЧВ ПОСЛЕ Г-ОБЛУЧЕНИЯ

^{1,2}Крючкова, М.О., ^{2,3}Иванова, А.Е., ^{2,4}Воробьева, Е.А.

¹Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пушкино

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

³Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

⁴Институт космических исследований РАН, Москва

Aspergillus niger - это широкораспространенный, эври-топный вид, известный своей устойчивостью к разнообразным, в том числе, экстремальным экологическим воздействиям (Domsch et al., 1980).

Объектами данного исследования были штаммы *Aspergillus niger*, выделенные из образцов пустынных почв (серозема из пустыни Негев, Израиль, и горной серо-коричневой почвы, горная пустыня, Марокко) после γ -облучения. Облучение почвенных образцов было проведено в июле 2014 года на базе физико-технического института имени Йоффе, Санкт-Петербург на гамма-установке К – 120000 с источником ⁶⁰Co (Sheptsov et al., 2018) внутри цилиндрического облучателя в режиме -50°C, 1 Торр. Мощность дозы в месте облучения составляла 5 кГр/час. Образцы серозема и горной серо-коричневой почвы облучали разными суммарными дозами - 0,1 и 1 МГр, соответственно. Методом посева почвенных разведений на твердые питательные среды была определена структура сообществ почвенных микромицетов до и после облучения. *Aspergillus niger* являлся видом-доминантом в облученных образцах. Кроме того, изоляты данного вида присутствовали как в контрольных, необлученных почвенных образцах, так и в облученных, причем, в обеих исследованных почвах. Таким образом, для анализа экофизиологических особенностей стрессоустойчивого вида был выбран вид *Aspergillus niger*.

Анализировали особенности роста грибных колоний 4-х штаммов *Aspergillus niger* (из контрольных и облученных образцов серозема и горной серо-коричневой почвы)

на агаризованной минеральной питательной среде Чапека при разном содержании органического вещества (глюкозы - 0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 2; 10 %), при разных температурах (5; 9; 10; 11; 12; 15; 25; 37; 42; 43,5; 44,5; 45; 46; 47; 50; 65°C) и влажности (aw= 0,7; 0,72; 0,74; 0,76; 0,77; 0,78; 0,79; 0,8; 0,81; 0,82; 0,83; 0,84; 0,9; 0,95). Для температурного и влажностного диапазонов отмечали наличие роста и диаметр колоний, при росте на среде с разным содержанием глюкозы измеряли радиальную скорость (Кг) роста колоний.

При низких концентрациях глюкозы в среде (от 0% до 0,5%) Кг у 4-х исследованных штаммов *A. niger* значительно не различалась. Значимые изменения Кг у штаммов регистрируются при повышенном содержании глюкозы в среде (1%, 2% и 10%). У штаммов *A. niger* из необлученного серозема, необлученной и облученной (1 МГр) серо-коричневой почв наблюдали тенденцию к снижению значения Кг при концентрации 1-2 % глюкозы в среде. У всех изученных штаммов *A. niger* регистрировали резкое увеличение значения Кг в экспоненциальной фазе при 10% глюкозы в среде в 1,5 -2 раза. Только у штамма *A. niger* из облученного меньшей дозой (0,1 МГр) серозема этой тенденции не обнаруживали, и возрастание Кг происходило уже при 2% глюкозы в среде. При крайне высокой дозе облучения в 1 МГр, примененной для серо-коричневой почвы, отличий между штаммами из облученного и контрольного образцов почв не выявлено.

Возрастание радиальной скорости роста сопровождается сокращением длительности экспоненциальной фазы

роста колоний, и наоборот, при снижении скорости роста может наблюдаться увеличение длительности фазы роста.

Для штамма *A. niger* из облученного серозема характерны большие скорости роста, но меньшие длительности экспоненциальной фазы в 2 раза и более позднее начало самой экспоненциальной фазы по сравнению со штаммом из необлученного серозема. У штаммов *A. niger* из облученной серо-коричневой почвы и штамма из необлученной серо-коричневой почвы не было зарегистрировано значительных различий между K_t при разных концентрациях углерода в среде, только при 10% глюкозы у штамма из облученной почвы длительность экспоненциальной фазы была дольше в 3 раза при сходной скорости.

Таким образом, отчетливо прослеживается компенсаторный механизм регулирования скорости и длительности роста грибных колоний у всех штаммов *A. niger* в широком диапазоне исследованных концентраций глюкозы от 0 до 10%, который заключается в переключении между r - и K -стратегией роста в разных условиях: – чем больше K_t , тем меньше длительность (т.е. гриб растет быстро, но недолго), и наоборот, чем меньше K_t , тем больше длительность (т.е. гриб растет медленно, но долго).

Облучение почв γ -лучами приводит к некоторому изменению температурного диапазона роста грибов вида *A. niger*, выделенных из этих почв (расширению при облучении дозой в 0,1 МГр и сокращению диапазона при воздействии дозой в 1 МГр), расширению оптимума роста

(чем больше доза воздействия, тем шире оптимум) и значительному изменению диаметра колоний при оптимальной температуре роста (увеличению при облучении дозой в 0,1 МГр и уменьшению при воздействии дозой в 1 МГр).

Таким образом, облучение почвы γ -лучами дозой в 0,1 МГр привело к возрастанию устойчивости вида, расширению оптимальных температур роста и уменьшению размера колоний при оптимальной влажности у гриба вида *A. niger*, выделенного из этой почвы. Облучение почвы γ -лучами дозой в 1 МГр привело к сужению оптимального диапазона влажности для роста *A. niger*, выделенного из этой почвы.

На примере *Aspergillus niger* Tiegh показано воздействие облучения на физиологические показатели. Отмечено возрастание скорости роста, сокращение экспоненциальной фазы роста (при концентрации глюкозы 2-10%), увеличение устойчивости к низким значениям температуры и влажности.

Список литературы

1. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H. 1980. Compendium of soil fungi. P.672
2. Cheptsov V.S, Vorobyova E. A., Osipov G. A. et al. 2018. Microbial activity in martian analog soils after ionizing radiation: implications for the preservation of subsurface life on Mars//AIMS MICROBIOLOGY. 4(3):541–562.

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОМИЦЕТОВ ФИЛЛОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ РОДА VACCINIUM В ПРОМЫШЛЕННЫХ И ЛЕСНЫХ БИОЦЕНОЗАХ

А.А. Кузнецова¹, Ю.В. Цветкова^{1,2}, А.В. Камченков¹, О.В. Синкевич¹

¹ФГБУ «ВНИИКР», МО, Раменский район, Быково

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Семейство Вересковые (*Ericaceae* J.) представляют собой растения вечнозеленых и листопадных кустарников, полукустарников и кустарничков, включающие в себя род *Vaccinium*. Наиболее распространенными представителями рода *Vaccinium* являются – голубика обыкновенная (*Vaccinium uliginosum* L.), клюква обыкновенная (*Vaccinium oxycoccos* L.), брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.) и черника обыкновенная (*Vaccinium myrtillus* L.). В России растения рода *Vaccinium* распространены практически повсеместно в хвойных и широколиственных лесах, охватывая территории Нечерноземной и Центрально-Черноземной зон Европейской части, а также Восточной и Западной Сибири, Кавказа и Дальнего Востока. В промышленных масштабах преимущественно выращивают голубику высокорослую (*Vaccinium corymbosum* L.) и клюкву крупноплодную (*Vaccinium macrocarpon* A.), популярность которых заключается в своей пищевой и лекарственной ценности.

Производство нетрадиционных ягодных культур является перспективной отраслью, но для получения качественного посадочного материала и высокого урожая, требуется проведение эффективного комплекса мероприятий, основу которых составляет фитосанитарный контроль состояния маточных растений. Болезни, часто принимающие характер эпифитотий, значительно снижают урожай, а также приводят к прекращению плодоношения и гибели растений. Грибные болезни растений рода *Vaccinium* в настоящее время изучены недостаточно, следовательно, изучение видового состава патогенов, понимание биологии возбу-

дителей болезней и разработка своевременных методов диагностики обеспечит повышение продуктивности ягодных растений в промышленных насаждениях.

Особо экономически значимыми видами являются представители рода *Diaporthe*, вызывающие заболевания растений рода *Vaccinium*. Симптомы поражения растений проявляются в виде апикального некроза веток, язв стеблей, поражения сосудистых тканей, пятнистостей листьев и гнили плодов в период вегетации и после уборки. Следует отметить, что на растениях рода *Vaccinium* существуют другие не менее опасные фитопатогены, представители семейств: *Botryosphaeriaceae* (*Botryosphaeria dothidea* (Moug.: Fr) Ces. & de Not, *Phyllosticta* spp., *Diplodia* spp.), *Sporocadaceae* (*Neopestalotiopsis* spp.), *Glomerellaceae* (*Colletotrichum* spp.), *Hyponectriaceae* (*Physalospora* spp.), *Nectriaceae* (*Fusarium* spp.), *Godroniaceae* (*Godronia cassandrae* Peck.), *Sclerotiniaceae* (*Botrytis cinerea* Pers., *Monilinia vaccinii-corymbosi* (JM Reade) Honey) и другие.

Целью данной работы является оценка биоразнообразия микромицетов филлосферы растений рода *Vaccinium*, произрастающих в промышленных и лесных биоценозах.

Материалом для работы являлся посадочный материал растений рода *Vaccinium* (голубика высокорослая, брусника обыкновенная, клюква крупноплодная), полученный при обследовании питомников в 2021-2022 гг в Калининградской области и г. Москве; при фитосанитарном исследовании подкарантинного посадочного материала импортного происхождения (Польша, Беларусь) и при мониторинге

естественных биоценозах Карельской и Костромской областей (черника обыкновенная).

Основные методы, которые использовали при исследовании: культурально-морфологические (микроскопирование, закладка на питательные среды картофельно-глюкозный и солодовый агары с добавлением антибиотиков) и молекулярно-генетические методы (классическая ПЦР с применением секвенирования по внутреннему транскрибируемому спейсеру (ITS) и двум участкам генов актина (ACT) и фактора элонгации трансляции (TEF)).

В ходе проведения исследования растений рода *Vaccinium* посадочного материала и дикоросов выявлены многочисленные симптомы поражения грибными организмами. При визуальном просмотре наблюдались бурно-красные некрозы срединных частей веток, потемнения и усыхания верхушечных стеблей растений, на некоторых визуализировались темные мелкие пикниды и бело-серый воздушный мицелий грибов рода *Diaporthe*. При микроскопировании отмечались, характерные для фомопсисных грибов, альфа и бета конидии.

На многих растениях отмечены симптомы альтернариоза, в виде образования темных некрозов и сажистого налета на частях стеблей растений. При микроскопировании грибы комплекса *Alternaria alternata* характеризовались коричневыми, разными по форме от яйцевидных до обратнойяйцевидных, с короткими апикальными выростами и множеством поперечных и продольных перегородок конидиями, в среднем размером 12,5x5,6 мкм.

Симптомы поражения *Botrytis cinerea* Pers наблюдались на посадочном материале растений, с признаками побурения и усыхания верхушечных ветвей растения, с образованием бежево-серого пушистого налета. При микроскопировании конидиеносцы – темноокрашенные, древовидноразветвленной формы, собранными в головки спорами. Конидии характеризовались округленной, эллипсоидальной, обратнойяйцевидной формой, размером 9-12 x 6,5-15 мкм.

На растениях рода *Vaccinium* встречались симптомы поражения вызванные грибами родов *Fusarium*, *Neopestalotiopsis*, *Cytospora*.

При цитоспорозе пораженные ветки характеризовались темными верхушечными некрозами, с образованием плоских темно-серых пикнид гриба. Вид *Cytospora parasitica* имел гиалиновые, несептированные, удлиненные, слегка изогнутые конидии, размером в среднем 6,2 x 1,5 мкм.

При песталотиосисе наблюдаются постепенное отмирание вегетативных тканей с образованием белого опушенного мицелия грибов и постепенным усыханием ветвей растения. При микроскопировании конидии вида *Neopestalotiopsis rosae* состояли из пяти клеток с 4-мя перегородками, характеризовались прямыми слабоверетеновидными с 3-мя цветными срединными ячейками, две верхние имели темно-коричневый цвет, а нижняя - серо-оливковый, размером в среднем 26,8 x 7,5 мкм с одним базальным отростком и от 2 до 4 апикальных отростков.

При фузариозном увядании также отмечены усыхание стеблей растения и развитие белого или бело-розового воздушного мицелия грибов. Макроконидии вида *Fusarium sporotrichioides* характеризовались веретеновидно-серповидной, эллиптически изогнутой или почти прямой формой, имели 3-5 перегородок: с тремя – размером в среднем 36,5 x 4,3 мкм, с пятью – размером в среднем 40,5 x 3,8 мкм. Микроконидии – шаровидные, диаметром 5-7 мкм.

На растениях черники обыкновенной помимо симптомов поражения грибами родов *Diaporthe* и *Alternaria*, отмечены темные некрозы с пятнистостями и образование

заметных язв на стеблях растений, с последующим отмиранием веточек. Признаки поражения вызывали лесные микромицеты такие как: *Rhizosphaera kalkhoffii*, *Phacidium calderae* и *Sydowia polyspora*. В основном вид *R. kalkhoffii* Bubak, вызывает побурение, некроз и отмирание хвоинок у многих видов елей, вид *S. polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll. поражает кедровую сосну, вызывая отмирание верхушек побегов и некрозы хвои. А также виды *Phacidium calderae* (Urries) Crous и *P. lacerum* Fr. служат причиной возникновения ожога хвойных растений. Выделялись эндофитные и сапротрофные грибы такие как: *Daldinia loculata* (Lév.) Sacc. и *Jackrogersella multiformis* (Fr.) L. Wendt, Kuhnert & M. Stadler, которые встречаются на гнилых и отмерших стволах лиственных древесных породах.

В результате проведенных исследований из 106 образцов растений рода *Vaccinium* выделено 350 изолятов грибов. При обследовании промышленных посадок – 209 изолятов, в подкарантинном посадочном материале – 65 изолятов и в лесном биоценозе – 76 изолятов.

Основной видовой состав микромицетов в производственных насаждениях представлен изолятами рода *Botrytis* (27,3 % от всех выделений), *Fusarium* (17,7%), комплексов грибов *Alternaria* (14,8%), рода *Diaporthe* (13,9%) и видом *C. parasitica* Norph. (6,7%). Следует отметить, что из рода *Diaporthe* отмечались такие виды как - *D. eres* Nitschke, *D. rudis* (Fr.) Nitschke и *D. bohemiae*.

В поступающем подкарантинном материале импортного происхождения представлен изолятами рода *Fusarium* (23,1%), видом *N. rosae* Maharachch., K.D. Hyde & Crous (15,4%), комплексом грибов *A. alternata* (15,3%), видом *B. cinerea* Pers. и видами рода *Diaporthe* (показаны в равных частях по 9,2 %). Из рода *Diaporthe* выделялись виды: *D. eres*, *D. nobilis*, а также карантинный вид – *D. vaccinii*.

В результате исследований видовой состава посадочного материала растений рода *Vaccinium* идентифицированы грибы 17 семейств, 9 порядков, 18 родов - *Diaporthe*, *Fusarium*, *Epicoccum*, *Botrytis*, *Sordaria*, *Alternaria*, *Diplodia*, *Truncatella*, *Pithomyces*, *Cytospora*, *Didymella*, *Godronia*, *Phyllosticta*, *Microdochium*, *Neopestalotiopsis*, *Chaetomium*, *Robillarda* и *Nigrospora*.

Основной видовой состав микромицетов лесного биоценоза на растениях черники обыкновенной отличался от выделенных грибов производственных насаждений и представлен был изолятами: видом *D. eres* (27,6% от всех выделений), комплексами грибов *Alternaria* (17,1%), видами *R. kalkhoffii* Bubak, *S. polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll и родом *Phacidium* (показаны в равных частях по 7,9%).

В результате исследований видовой состава с растений черники обыкновенной лесного биоценоза идентифицировано 12 семейств, 10 порядков и 15 родов – *Rhizosphaera*, *Sydowia*, *Diaporthe*, *Alternaria*, *Phacidium*, *Didymella*, *Godronia*, *Jackrogersella*, *Nigrospora*, *Daldinia*, *Penicillium*, *Microsphaeropsis*, *Thyronectria*, *Fusarium*, *Preussia* и *Hormonema*.

Таким образом, следует отметить что видовой состав микромицетов достаточно разнообразен, напрямую зависит от географического происхождения и от среды обитания растений рода *Vaccinium*. Микромицеты, присутствующие на растениях в промышленных посадках, значительно отличаются от грибов, обитающих в естественной среде произрастания растений. Следует отметить, что видовой состав с каждым годом меняется, появляются новые малоизученные виды со своими вредоносными особенностями и зачастую могут представлять опасность для выращивания растений рода *Vaccinium* в промышленных масштабах. С приобретением посадочного материала новых и продук-

тивных сортов существует риск проникновения и распространения на территорию РФ инвазивных видов грибов и грибоподобных организмов. Поэтому важное значение имеет фитосанитарный контроль поступающей подкарантинной продукции импортного происхождения растений рода *Vaccinium*.

Список литературы

1. Курлович Т.В. Брусника, голубика, клюква, черника // М.: Издательский Дом МСП, 2005. – 128 с.
2. Муханин И. В., Щекотова Л. А., Данилова Т. А., Кожина А. И., Жбанова О. В., Дорохов Д. С., Дорохова Е. В. Голубика // Российская школа садоводства, 2015. – № 6. – С. 29.
3. Макеева Галина Юрьевна. Патогенные микромицеты, основные болезни и способы защиты от них на культивируемых ягодных кустарничках подсемейства Брусничные (*Vaccinioideae*) // Дис. канд. биол. наук: РГБ ОД, 61:04-3/29-9: Кострома, 2003. – 138 с.
4. Lombard L. et al. Diaporthe species associated with *Vaccinium*, with specific reference to Europe // *Phytopathol. Mediterr.* – 2014. – vol. 53, no. 2. – pp. 287-299.
5. Hilário, S.; Santos, L.; Alves, A. Diversity and Pathogenicity of Diaporthe Species Revealed from a Survey of Blueberry Orchards in Portugal. // *Agriculture.* – 2021. – 11. – 1271.
6. Болезни голубики — защита насаждений голубики садовой. [Электронный ресурс]. – URL: <https://golubika.by/borba-s-boleznyami-v-nasazhdeniyax-golubiki-sadovoj.html>

ФИТОПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ НА ТЕРРИТОРИИ ПАРКА «ПОБЕДА» ГОРОДА МОЛОДЕЧНО

Лемеза Н.А., Русакович А.С.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

В последние годы особый интерес представляют исследования микобиоты на урбанизированных территориях, где в силу ряда причин (выбросы промышленных предприятий и автотранспорта в виде вредных газов, жидких аэрозолей, попадание в почву используемых солевых растворов, реагентов и других вредных веществ с дорожного покрытия и т.д.) создаются благоприятные условия для развития фитопатогенных микромицетов. Постоянное воздействие на растительные организмы многочисленных неблагоприятных факторов техногенной среды отрицательно влияет на их жизнедеятельность, в результате чего резко снижается устойчивость растений, используемых в озеленении городов и других населенных пунктов к фитопатогенным микромицетам.

В этой связи изучение видового состава, распространения и вредоносности фитопатогенных микромицетов на урбанизированных территориях, т.е. в зоне интенсивных техногенных нагрузок, необходимо для объективной экологической оценки способности природных и культурных экосистем выдерживать постоянно усиливающиеся воздействия негативных последствий техногенеза. Такая оценка позволит разработать научно обоснованную и интегрированную систему мероприятий по ограничению распространения патогенных организмов и предупреждения их появления в новых регионах.

Место, материалы и методы исследования. Исследования проводились на территории парка «Победа» г. Молодечно Минской области Республики Беларусь. Данный памятник культуры, площадью 45 га, расположен в центральной части города на побережье реки Уша. Парк характеризуется достаточно обширным ландшафтом и видовым составом растений. Лесной массив занимает около 60% территории парка и примерно 40% растительного покрова находится в естественном нетронутом состоянии. По лесорастительному районированию Молодечненский район относится к геоботанической подзоне дубово-темнохвойных лесов. Основные лесообразующие породы: хвойные – 78,3%; мягколиственные – 20%; твердолиственные – 1,7%.

Материалом для исследования служили дикорастущие и культурные растения, пораженные фитопатогенными

микромицетами и произрастающие в различных почвенно-экологических условиях парка «Победа». Полевые исследования с целью выявления пораженных растений осуществлялись детально-маршрутным и стационарным методами в течение вегетационных периодов 2020-2021 гг. Собранный материал обрабатывался по общепринятой методике. Идентификация видового состава микромицетов проводилась по [1-7], а питающих растений – по [8]. Названия указанных ниже видов микромицетов приведены в соответствии с требованиями Международной микологической глобальной базы данных – *Index fungorum* [9].

Результаты и их обсуждение. В ходе проведенных исследований на территории парка «Победа» г. Молодечно нами обнаружено 79 видов фитопатогенных микромицетов, относящихся к 4 отделам: *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Deuteromycota* и *Oomycota*. Выявленные грибы и грибоподобные организмы паразитировали на 64 видах питающих растений из 18 семейств. Они развивались преимущественно на листьях, стеблях, цветках и плодах главным образом травянистых, реже древесных растений, снижая их продуктивность и декоративные качества. Приводим краткий обзор полученных результатов.

Аскомицеты были представлены 45 видами из 9 родов. При этом подавляющее большинство представителей аскомицетов относится к порядку *Erysiphales*. Мучнисторосяные грибы паразитировали на 26 видах питающих растений, относящихся к 13 семействам. Преобладающий род – *Erysiphe* (27 видов), который был отмечен на 32 видах растений из 27 родов и 13 семейств. Менее многочисленными были роды *Golovinomyces* (12 видов) и *Podosphaera* (5 видов). Представители рода *Golovinomyces* паразитировали на 8 видах питающих растений из 6 родов и 5 семейств, а представители рода *Podosphaera* – на 5 видах из 5 родов и 2 семейств. Наиболее распространенными и вредоносными микромицетами сумчатых грибов являются следующие представители:

Erysiphe adunca (Wallr.) Fr. на *Salix caprea* L., *E. alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam. var. *alphitoides* на *Quercus robur* L., *E. aquilegiae* DC. var. *ranunculi* (Grev.) R. Y. Zheng et G. Q. Chen. на *Ranunculus repens* L., *E.*

berberidis DC. на *Berberis vulgaris* L., *E. syringae-japonicae* (U. Braun) U. Braun et S. Takam на *Syringa vulgaris* L., *E. trifoliorum* (Wallr.) U. Braun на *Trifolium pratense* L., *T. medium* L. и *T. pratense* L., *E. robiniae* Grev. на *Robinia pseudoacacia* L., *E. praczewskii* (Jacq.) U. Braun et S. Takam на *Caragana arborescens* Lam., *E. urticae* (Wallr.) S. Blumer на *Urtica dioica* L., *E. polygoni* DC. на *Polygonum aviculare* L. и *Rumex acetosa* L., *E. hyperici* (Wallr.) S. Blumer на *Hypericum perforatum* L., *E. heraclei* DC. на *Aegopodium podagraria* L., *E. pisi* DC. на *Vicia cracca* L., *E. caulicola* (Petr.) U. Braun. на *Chamaecytisus ruthenicus* (Fisch. ex Wolf.) Klásk., *E. cruciferarum* Opiz ex Junell. на *Berteroa incana* (L.) DC.

На многих аборигенных видах растений парка высокую степень поражения вызывали такие виды мучнисторосяных грибов, как *Erysiphe astragali* DC., *E. convolvuli* DC., *E. cruciferarum* Opiz ex L. Junell на рудеральных видах сем. Brassicaceae, *E. macleayae* R.Y. Zheng et G.Q. Chen на *Chelidonium majus* L., *E. hyperici* (Wallr.) S. Blumer на *Hypericum maculatum* L., *E. urticae* (Wallr.) S. Blumer, *E. howeana* U. Braun на *Oenothera biennis* L., *E. intermedia* (U. Braun) U. Braun на *Lupinus polyphyllus* Lindl., *E. vanbruntiana* (Gerard) U. Braun et S. Takam. на *Sambucus racemosa* L.,

Golovinomyces artemisiae (Grev.) V. P. Heluta на *Artemisia absinthium* L., *A. campestris* L. и *A. vulgaris* L., *G. cichoracearum* (DC.) V. P. Heluta на *Cichorium intybus* L., *G. cynoglossi* (Wallr.) V.P. Heluta на *Cynoglossum officinale* L., *G. depressus* (Wallr.) V.P. Heluta на видах рода *Arctium* L., *G. macrocarpus* (Speer) U. Braun на *Achillea millefolium* L. и *Tanacetum vulgare* L., *G. biocelatus* (Ehrenb.) Gel. на *Prunella vulgaris* L., *G. cichoraceorum* (DC.) Gel. на *Centaurea jacea* L., *G. artemisia* (Grev.) Gel. на *Artemisia vulgare* L., *G. depressus* (Wallr.) V.P. Heluta на видах рода *Arctium* и др.

Podosphaera leucotricha (Ellis et Everh) E.S. Salmon на *Malus domestica* Borkh., *P. erigerontis-canadensis* (Lév.) U. Braun et T.Z. Liu на *Chamaemilla suaveolens* (Pursh) Rydb., *Leontodon autumnalis* L. и *Taraxacum officinale* Wigg., *P. aucupariae* Erikss. на *Sorbus aucuparia* L., *P. aphanis* (Wallr.) U. Braun et S. Takam на *Geum urbanum* L., *P. erigeronia-canadensis* (Lév.) U. Braun et T.Z. Liu на *Taraxacum officinale* Wigg.

Ограниченное распространение среди эризифальных грибов имели такие виды, как *E. russelii* (Clinton) U. Braun et S. Takam. на *Xanthoxalis stricta* (L.) Small, *E. caulicola* (Petr.) U. Braun на *Astragalus glycyphyllos* L., *E. ulmi* Castagne на *Ulmus glabra* Huds., *E. viburni* Duby на *Viburnum opulus* L., *Golovinomyces biocellatus* (Ehrenb.) V.P. Heluta на *Monarda didyma* L., *Podosphaera aucupariae* Erikss. на *Sorbus aucuparia* L., *P. clandestina* (Wallr.) Lév. на *Crataegus submollis* Sarg.

Podosphaera aphanis (Wallr.) U. Braun et S. Takam. на *Geum urbanum* L., *P. erigeronta-canadensis* (Lév.) U. Braun et T.Z. Liu на *Taraxacum officinale* Wigg.

Carpodium salicinum Mont. на *Tilia cordata* Mill.

Базидиомицеты, выявленные на территории парка, были представлены 19 видами, которые относятся к 5 родам из двух порядков - *Polyurales* и *Uredinales*. Среди них преобладали следующие виды родов *Uromyces* и *Melampsora*: *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Link на *Phaseolus vulgaris* L.,

U. dianthi (Pers.) Niessl на *Dianthus chinensis* L., *U. caraganae* (Thum) Magnus на *Caragana arborescens* Lam., *U. rumicis* Schum.) Wint. на *Rumex obtusifolius* L., *U. fallens* (Desm.) Kern на *Trifolium pratense* L. *Melampsora larici-carprearum* Kleb. на *Salix caprea* L., *M. amygdalinae* Kleb на *Salix-alba* Kleb., *M. allii-fragilis* Kleb. на *Salix fragilis*, *M. populnea* (Pers.) P. Karst. на видах рода *Populus* L.

Дейтеромицеты представлены 9 видами патогенов из 5 родов, которые относятся к двум классам – *Hyphomycetes* и *Coelomycetes*. Среди них преобладающим является род *Phyllosticta*: *Phyllosticta betulicola* (Oudem.) на *Betula pendula* Roth., *P. tilia* Sacc. et Speg. на *Tilia cordata* Mill., *P. asteris* Bres. на *Callistephus chinensis* (L.) Nees, *P. parvimammata* R. Sprague. на *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth, *P. sorbi* Westend. на *Sorbus aucuparia* L. и др.

Оомицеты были представлены 7 видами из 3 родов и 2 семейств – *Peronosporaceae* и *Albuginaceae*, принадлежащих к порядку *Peronosporales*. Среди них достаточно широкое распространение имели такие виды, как *Peronospora variabilis* Gäum. Mangor на *Chenopodium album* L., *P. alta* Fuckel на *Plantago major* L., *P. trifoliorum de Bary* на видах рода *Trifolium*, *P. polygoni* Halst. на *Polygonum aviculare* L., *P. farinosa* (Fr.) Fr. на *Chenopodium album* L., *Bremia lactucae* Regel. на *Taraxacum officinale* Wigg., *Albugo (Frliti (Biv.) Kuntze* на *Amaranthus retroflexus* L.

При проведении исследований мы нередко наблюдали совместное поражение листьев несколькими видами микромицетов. Так, на листьях березы отмечалось совместное развитие возбудителей мучнистой росы (филлоктиния-эризифе), на мать-и-мачехе – ржавчинных грибов (колеоспориум – пукциния) и др.

Список литературы

1. Азбукина, З. М. Определитель ржавчинных грибов советского Дальнего Востока / З. М. Азбукина – М.: Наука, 1984. – 288 с.
2. Пирилович И. С. Грибоподобные организмы (порядок *Peronosporales*) Беларуси. - Минск: БГУ, 2013. – 133 с.
3. Пирилович, И.С. Мучнисторосяные грибы (порядок *Erysiphales*) Беларуси. – Минск: БГУ, 2018. – 279 с.
4. Гелюта, В. П. Флора грибов Украины. Мучнисторосяные грибы /В. П. Гелюта. – Киев: Наукова думка, 1989. – 256 с.
5. Купревич, В.Ф. Определитель ржавчинных грибов СССР. Часть 1./В.Ф. Купревич, В.И. Ульянищев. – Минск: Наука и техника, 1975. – 336 с.
6. Новотельнова, Н. С. Флора споровых растений СССР. Т. XI: Грибы (3) / Н. С. Новотельнова, К. А. Пыстина. – Л.: Наука, 1985. – 364 с.
7. Ульянищев, В.И. Определитель ржавчинных грибов СССР/ В.И. Ульянищев. – Ч. 2. – Л.: Наука, 1978. – 384 с.
8. Определитель высших растений Беларуси /под. ред. В.И. Парфенова. – Минск: Дизайн ПРО, 1999. – 472 с.
9. Kirk P.M. Index of fungi. //The global fungal nomenclator [Electronic resours]. The CABI, 2003-2004. Mode of access: <http://indexfungorum.org/> Date of access: 19.05.2022.

ВЛИЯНИЕ НА РОСТ И НАКОПЛЕНИЕ ФОСФОРА РАСТЕНИЯМИ КЛЮКВЫ КРУПНОПЛОДНОЙ ПРИ СОКУЛЬТИВИРОВАНИИ С МИКРОМИЦЕТОМ *PHIALOCERPHALA FORTINII*

Михеев В.С., Стручкова И.В.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

За последние 20 лет в мире накоплена значительная научная информация о положительных эффектах колонизации микроскопическими эндофитными грибами разных видов растений, однако механизмы воздействия грибов на вересковые растения остаются изучены очень слабо. В течение последнего десятилетия нами изучаются биохимические механизмы и разрабатываются методы стимуляции развития ягодных растений сем. Вересковые через искусственное заселение корней симбионтами - темными септированными эндофитами (на примере *Phialocephala fortinii*).

Целью данного исследования являлась оценка способности изолята *Phialocephala fortinii* гидролизовать органические фосфаты почвы, изменять морфометрические показатели растений и в условиях сокультивирования способствовать накоплению фосфора хозяином - клюквой крупноплодной (*Vaccinium macrocarpon* Ait.).

Способность грибов гидролизовать органические фосфаты почвы доказывали, определяя еженедельно фитазную активность в культуральной жидкости в течение 28 суток роста при рН реакционной среды 4,5. За единицу удельной активности фитазы (U) принимали количество мкг фосфора, высвобождаемого ферментом из фитата натрия за 1 минуту в расчете на 1 мг белка. Концентрацию фосфат-ионов определяли спектрофотометрически по методу Грайнера с помощью рабочего реактива, содержащего молибдат аммония, серную кислоту и ацетон, измеряя интенсивность развивающейся окраски при длине волны 355 нм. Концентрацию белка в культуральной жидкости определяли методом Лоури.

В эксперименте по сокультивированию использовали культуру изолята гриба *P. fortinii*, выделенного из корней дикорастущих вересковых. Изоляты *P. fortinii* получали из тонких волосовидных корней брусники, для чего фрагменты корней стерилизовали в 37% растворе перекиси водорода и затем помещали на плотную питательную среду. После развития на среде разнообразных по морфологии грибов выбирали колонии, соответствующие по характеристикам группе темных септированных эндофитов. Видовую принадлежность определяли с помощью секвенирования ITS-регионов ДНК (ФГБНУ ЦКП «Всероссийский науч-

но-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии»). Подселение гриба проводили к микроклонально размноженным *in vitro* растениям возрастом 2 месяца. Растения высаживали в пластиковые емкости, заполненные слоем торфяного грунта толщиной 6 см (35 г), в опытном варианте в толщу грунта на глубину 1,5 см вносили фрагменты колоний чистой культуры гриба (D=8 мм). В контрольном варианте гриб не вносили. Растения культивировали в течение 6 месяцев в условиях естественного освещения, ежемесячно изучая паттерн и степень грибной колонизации корней с помощью светлопольной микроскопии. По истечении срока сокультивирования измеряли длину и разветвленность корней и побегов, а также содержание фосфора в корнях и листьях растений по методу Грайнера после «мокрого» озоления по Чернавиной.

Максимальная активность фосфатсольюбилизирующих ферментов наблюдалась у *P. fortinii* – на 21 сутки и составляла 6,91 U.

По сравнению с неинфицированным контролем, спустя 6 месяцев сокультивирования с *P. fortinii* у растений: 1) возрастала разветвленность (на 41%) и длина (на 17%) корневой системы, при этом у побегов не увеличивалась ни длина, ни разветвленность; 2) содержание фосфора увеличивалось (в корнях - на 24%, в листьях - на 50%).

Наличие фитазной активности у изолята *P. fortinii* указывает на способность высвобождать фосфор из органических компонентов почвы. Обнаруженное возрастание разветвленности и длины корней указывает на способность гриба *P. fortinii* изменять архитектуру корневой системы на более эффективную для поступления фосфора. Увеличение содержания фосфора в растениях при сокультивировании с *P. fortinii* доказывает способность гриба усиливать усвоение фосфора почвы растениями.

Список литературы

1. Greiner R., Konietzny U. Construction of a bioreactor to produce special breakdown products of phytate // Journal of biotechnology. – 1996. – Т. 48. – №. 1-2. – С. 153-159.

КОРНЕВЫЕ И СТВОЛОВЫЕ ГНИЛИ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО В ЛЕСОПАРКОВЫХ ЗОНАХ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

Мыцыкова А.А., Мелькумов Г.М.

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»,

В связи с резко изменяющимися экологическими условиями городской среды дуб стал более подвержен влиянию абиогенных и биогенных стрессоров, что ослабляет его и предрасполагает к возникновению патологического процесса различной локализации (стеблевые, стволые и

корневые гнили, поражения листьев, побегов и других вегетативных органов) (Мелькумов, 2012).

Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) – мощное долгоживущее дерево до 40 метров высотой с прямым стволом, покрытым трещиноватой, темно-серой корой (Никитина, Шевырева, 2019). Является ценной лесообразующей по-

родой, применяемой в деревообрабатывающей и пищевой промышленности, медицине как противовоспалительное, вяжущее, седативное и кровоостанавливающее средство (Кулишенко, Мыцькова, Мелькумов, 2021).

Сбор материала проводился в апреле-августе 2021-2022 гг. в ходе маршрутного обследования лесопарковых сообществ Воронежской области.

Идентификация возбудителей болезней дуба черешчатого осуществлялась с помощью определителей (Бондарцев, 1953; Черемисинов, Негруцкий, Лешковцева, 1970; Журавлев, Крангауз, Яковлев, 1974; Журавлев, Селиванова, Черемисинов, 1979; Лессо, 2003; Эванс, Кибби, 2008; Agrios, 2009; Янсен, 2014) с использованием микроскопа Микромед-1, фотокамеры CanonEOS 550D с объективом EF 100 mm (f/2,8 MacroUSM).

Названия таксонов грибов приведены в соответствии с базой данных Интернет-ресурса CABI Bioscience Database – <http://www.mycobank.org> (по состоянию на 10.08.2022) и расположены согласно системе, представленной в 10-м издании Словаря грибов Айнсворта и Бисби (Kirk et al., 2008).

В результате исследования в лесопарковых зонах Воронежской области установлено 7 типов корневых и стволовых гнилей дуба черешчатого. Возбудителями гнилей корней и древесины выступают дереворазрушающие грибы – ксилотрофы, среди которых встречаются виды, способные развиваться как на живой, так и на отмершей части растения. Возбудители гнилей проникают в ткани дерева через различные повреждения стволов, ветвей и корней – зарубки, затесы, раковые раны, а также через спилы или обломы сучьев.

Гнили характеризуются размягчением и разрушением растительных тканей, отдельных органов и целых растений под влиянием ферментов, выделяемых патогенами. Загниванию подвержены семена, плоды, листья, ветви, стволы, корни и древесина.

Ниже приводится описание гнилевых болезней корней и стволов дуба черешчатого, произрастающего в лесопарковых сообществах Воронежской области.

1. Белую волокнистую корневую гниль вызывает афиллофороидный гифомицет *Inonotus dryadeus* (Pers.) Murrill. В лесопарковых зонах области плодовые тела гриба образуют у основания пораженных стволов дуба черешчатого. Они однолетние плоские или подушкообразные, крупные, в свежем виде губчатые, при высыхании становятся пробковидными. Поверхность плодового тела бархатистая, желто-серого цвета. Гниль ядрово-заболонная. В начальной стадии гниения пораженная древесина увлажняется и становится коричневого цвета. Позже она светлеет, приобретает желтовато-белую окраску и мелковолоконистую структуру. Поражение приводит к ветровалу и бурелому.

2. Темно-коричневую корневую гниль образует базидиальный гриб *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With. На пораженных растениях у основания стволов образуются плодовые тела в виде мясистых шляпок на короткой боковой ножке. Гриб вызывает загнивание центральной части корней и основания стволов. Заболевание не представляет существенной опасности для зеленых насаждений, так как печеночница вызывает слабое загнивание древесины.

3. Желтовато-белую ядровую гниль вызывает макромицет *Phellinus robustus* (P. Karst.) Bourdot & Galzin. Гриб образует многолетние крупные плодовые тела деревянистой консистенции, в молодом возрасте – желтоватообразные, с возрастом – копытообразной формы. В начальной стадии гниения пораженная древесина приобретает бурую окраску. Позже в ней появляются светло-желтые полосы. В

дальнейшем гниль становится белой или желтовато-белой с редкими черными линиями. Гниль развивается преимущественно в нижней части ствола на протяжении 3-5 м.

4. Пестрая ядровая гниль образует афиллофороидный гименомицет *Inonotus dryophilus* (Berk.) Murrill, формирующий однолетние, пробково-мясистые плодовые тела, с возрастом твердеющие и приобретающие желвакообразную или копытообразную форму. Гниль коррозионного типа. В начальной стадии гниения пораженная древесина сначала становится коричневой, позже в ней появляются светло-желтые вытянутые выцветы целлюлозы, которые на продольном разрезе имеют вид длинных белых полосок. В конечной стадии на местах белых полосок появляются ямки, и древесина становится пестрой, рыхлой, пористой.

5. Образование на стволах дуба черешчатого красно-бурой призматической ядровой гнили связано с деятельностью базидиального гриба *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. Данный макромицет характеризуется наличием однолетних, веерообразных плодовых тел, мягкой, затем твердеющей консистенцией, различной величины, формы и цвета. Появление вида гнили приводит к последующему ослаблению или усыханию дуба черешчатого в лесопарковых зонах Воронежской области.

6. Темно-бурю комлевую гниль вызывает афиллофороидный гриб *Daedalea quercina* (Berk.) Murrill, образующий многолетние плодовые тела в виде плоских шляпок, боком прикрепленных к субстрату, утолщенных у основания, с острым краем. В начале поражения древесина становится грязно-бурого или серовато-коричневого цвета. Позже в ней появляются расположенные по сердцевинным лучам трещины, в которых образуются желтовато-серые пленки мицелия. В конечной стадии гниль приобретает темно-бурю окраску, распадается на призмы и пластинки. Гниль располагается в нижней части ствола, поднимаясь на высоту 1-3 м.

7. В лесных и парковых ценозах Воронежской области дуб черешчатый также может страдать от гифомицета *Climacodon septentrionalis*. (Fr.) P. Karst., приводящего к появлению на древесине желто-белой ядровой гнили. Конечная стадия гниения характеризуется появлением в проводящих тканях дерева трещин в направлении сердцевинных лучей и годичных колец. В трещинах образуются молочно-белые пленки мицелия. Гнилая древесина легко расщепляется на тонкие пластинки. Гниль сосредоточена в нижней части ствола, реже развивается в верхней части выступающих корневых лап.

Таким образом, детальное исследование корней и стволов дуба черешчатого позволит дать более полную картину микозных заболеваний рассматриваемого вида растений в лесопарковых сообществах Воронежской области.

Список литературы

1. Мелькумов Г.М. Поражаемость березы повислой и дуба черешчатого афиллофоровыми грибами в парковой зоне города Воронежа / Г.М. Мелькумов // Тезисы докладов II (X) Международной Ботанической Конференции молодых ученых в Санкт-Петербурге. – Санкт-Петербург: ЛЭТИ, 2012. – С. 27-28.
2. Никитина О.Н. Деревья и кустарники парков средней полосы России: Атлас-определитель / О.Н. Никитина, Н.А. Шевырева. – Москва: Фитон XXI, 2019. – С. 80-81.
3. Кулишенко Ю.О. Микозы дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в Ботаническом саду имени Б.М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета / Ю.О. Кулишенко, А.А. Мыцькова, Г.М. Мелькумов

- // Актуальные вопросы изучения наземных и водных экосистем среднерусской лесостепи. Выпуск 2; Воронежский государственный университет. – Воронеж: Цифровая полиграфия, 2021. – С. 32-38.
4. Бондарцев А.С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа / А.С. Бондарцев. – Москва-Ленинград: Изд-во АН СССР, 1953. – 1106 с.
 5. Черемисинов Н.А. Грибы и грибные болезни деревьев и кустарников / Н.А. Черемисинов, С.Ф. Негруцкий, И.И. Лешковцева. – Москва: Лесная промышленность, 1970. – 392 с.
 6. Журавлев И.И. Болезни лесных деревьев и кустарников / И.И. Журавлев, Р.А. Крангауз, В.Г. Яковлев. – Москва: Лесная промышленность, 1974. – 160 с.
 7. Журавлев И.И. Определитель грибных болезней деревьев и кустарников. Справочник / И.И. Журавлев, Т.Н. Селиванова, Н.А. Черемисинов. – Москва: Лесная промышленность, 1979. – 247 с.
 8. Лессо Т. Определитель. Грибы / Т. Лессо. – Москва: АСТ: Астрель, 2003. – 304 с.
 9. Эванс Ш. Энциклопедия. Грибы / Ш. Эванс, Д. Кибби. – Москва: АСТ-Астрель, 2008. – 296 с.
 10. Agrios G.N. Plant Pathology. Plant diseases caused by fungi / G.N. Agrios. – USA: Elsevier Academic Press, 2009. – 922 p.
 11. Янсен П. Все о грибах / П. Янсен. – Вильнюс: UAB «BESTIARY», 2014. – 128 с.
 12. Kirk P.M. Dictionary of the Fungi / P.M. Kirk, P.F. Cannon, D.W. Minter, J.A. Stalpers. – Wallingford: CABT Europe-UK, 2008. – 771 p.

СОСТОЯНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ МУЧНИСТОЙ РОСЫ УРБАНОФЛОРЫ ТАШКЕНТА

Набиева Д.Б., Иминова М.М., Мустафаев И.М.
Андижанский государственный университет
Институт Ботаники АН РУз

Аннотация: В течении 2020-2022 гг. были собраны материалы из растений зараженные мучнистой росой в ботаническом саду, парках и зеленых зонах города Ташкента и мучнистая роса была морфологически проанализирована и идентифицирована. Часто встречающие представители были из родов *Erysiphe*, *Podosphaera*, *Uncinula*, *Leveillula*, *Arthrocladia*, *Sphaerotheca*, *Phyllactinia*.

В последнее время городские зеленые зоны играют решающую роль в поддержании чистоты воздуха и улучшении здоровья населения. Растения способны удалять из воздуха как вредные газы, так и частицы, способствуя при этом улучшению качества здоровья и благополучия. Заболевания растений могут снизить долговечность, а в самых крайних случаях полностью уничтожить их.

В течение долгих лет в связи с изменением экологических условий и активизацией интродукционных работ, а также ввозом посадочного материала из разных регионов, появилась необходимость продолжения исследований по оценке коллекции растений на поражаемость грибными заболеваниями на естественном инфекционном фоне. Ощутимый вред причиняет мучнистая роса, которая приводит к деформации молодых листьев, зеленых побегов, ветвей, цветков и плодов, нарушая декоративный вид растений.

Мучнисторосые грибы биотрофные, высокоспециализированные патогены, являются облигатными паразитами, развиваясь только на живых частях растений.

Предыдущие сведения сообщают что этот вид гриба вызывает мучнистую росу на растениях в Аргентине (Delhey и др. 2003), Бразилии (Liberato & Barreto 2004, Fonseca и др. 2015), США (Shi & Mmbaga 2006), Турции (Göre 2009), Индии (Baiswar и др. 2009), Китае, Тайване, Японии, Кореи, России, Италии, Португалии, Испании, Швейцарии, Великобритании, Украине, Южной Африке, Австралии, Новой Зеландии (Braun & Cook 2012), Мексике (Márquez-Licona G и др. 2018) и др.

Специальные исследования по мучнисторосым грибам в Узбекистане провели Т.С. Панфилова (1953), М.А. Каримов (1961), У.У. Расулов (1971), М.И. Иминов (1966), Н.И. Гапоненко, Ф.Г. Ахмедова, С.С. Рамазанова, М.Ш. Сагдул-

лаева, Х.М. Киргизбаева (1983), Ш.Г. Камиллов (1991), Х.Х. Нуралиев (1998), Ю.Ш. Гаффаров (2004), Ж.П.Шеркулова (2018), И.М. Мустафаев (2018) и др.

В течение 2020-2022 гг. наблюдались серьезные симптомы мучнистой росы на растениях растущих в г. Ташкента. Мучнистая роса является причиной значительного заболевания и встречается на самых разнообразных видах семейств: *Lythraceae*, *Salicaceae*, *Fagaceae*, *Rosaceae*, *Bignoniaceae*, *Solanaceae*, *Vitaceae*, *Boraginaceae*, *Oleaceae*, *Fabaceae*, *Aceraceae*, *Ulmaceae*, *Roaceae*, *Portulacaceae* и др.

Цель исследования: выявление возбудителя мучнистой росы растений города Ташкента.

Материалом работы послужили свежие и гербарные образцы пораженных частей растений, собранные 2020-2022гг. в Ботаническом саду, парках и зеленых зонах города Ташкента. Части растения имели обильный мицелиальный рост и беловатые спороношения, на новых отростках, на обеих сторонах листьев, цветках и плодах. Гербаризация собранных материалов проводилась по общепринятой методике и эти образцы хранятся в гербарии лаборатории Микологии и альгологии института Ботаники АН Республики Узбекистан.

Микроскопические анализы проводились с помощью световой микроскопии (МБИ-3 и Motic B1). Кусочки (около 20 × 20 мм) сильно зараженных листьев использовали для оценки. Патоген не был отделен от ткани хозяина, и микроскопия проводилась на сегментах свежих листьев. Конидии и конидиофоры, в основном на верхних поверхностях листьев, были исследованы под микроскопом. На препаратах со спорами, помещенными в каплю молочной кислоты с последующим исследованием под микроскопом (x10, x40 и x100 мкм) выбранных спор каждого спорного состояния. Для статистического анализа, измерений каждой характеристики были рассчитаны с использованием MS Excel (2010).

При таксономической идентификации гриба использовали главным образом определители и монографические работы. Название грибов по <http://www.indexfungorum.org/>,

питающие растения по <http://www.plantsoftheworldonline.org/>.

В результате проведенного исследования выявлены виды чужеродных грибов, характеризующие потенциальной инвазионной опасностью для насаждений г. Ташкента. В течение 2020-2022гг. было отобрано 200 образца растений, зараженных мучнистой росой. Выявлено, что чаще всего колонизировались конидии и клейстотеции на верхней стороне листьев, а клейстотеции часто встречались на нижней стороне тоже. Анаморфы мучнистой росы чаще всего встречались весной и летом, в то время как телеоморфы встречались в основном осенью. Возбудители мучнистой росы были идентифицированы представителями родов из семейства *Erysiphaceae*: 8 вида и 30 формы *Erysiphe*, 3

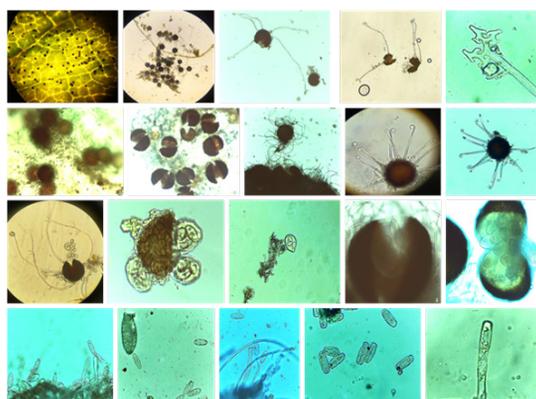
вида и 2 формы *Podosphaera*, 4 вида и 1 форма *Uncinula*, 10 вида и 11 форм *Leveillula*, 2 вида *Arthrocladia*, 4 вида, 9 форм и 2 вариации *Sphaerotheca*, 1 вид и 3 формы *Phyllactinia*, 4 вида *Microsphaera*, 1 вид *Sawadaea*.

Нами выявлено что, патогенные грибы представители семейства *Erysiphaceae* – возбудители мучнистой росы и ухудшают декоративные качества растений, уменьшают ассимилирующую поверхность, что приводит к ослаблению растений, преждевременному листопаду, снижению их декоративных качеств. Нами отмечено что, инвазивный патогенный гриб особенно вредоносен для молодых растений, вызывает их усыхание и гибель в течение вегетационного периода.

Таблица 1. Мучнистая роса на деревьях, кустарниках, лианах и травах.



Таблица 2. Клейстотеции, придатки, аски, аскоспоры, конидии, конидиофоры мучнисто росяных грибов.



Заключение.

Обследование патогенной микофлоры представителей местных и интродуцированных растений проведенное в вегетационный сезон 2020-2021гг., позволило выявить патогенных грибов, чужеродных для насаждений города Ташкента. Встречаемость патогенных грибов на насаждениях распространены очень широко. По данным ряда исследователей, в большинстве случаев, новые виды возбудителей болезни было выявлено на молодых растениях-интродуцентах, что свидетельствовало в пользу проникновения их в страну потребителя вместе с посадочным материалом. Сведения о биологии выявленных патогенов малочисленны, информация о вредоносности, путей распространения, времени и географии проникновения отсутствует. Поскольку растения и продукция растениеводства и далее будут ввозиться в столицу, эти вопросы являются предметом дальнейшего изучения, а разработка мер по минимизации

проникновения, обоснования и дальнейшего распространения новых видов возбудителей болезней и вредителей растений является важнейшей задачей, целью которой является обеспечения экологической безопасности страны.

Список литературы

1. Braun, U., Cook R.T.A. Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews). In CBS Biodiversity Series; CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre: Utrecht, The Netherlands, 2012; Volume 11, pp. 1–707. ISBN 9789070351892.
2. Braun, U. The Powdery Mildews (Erysiphales) of Europe; Gustav Fischer: Stuttgart, Germany, 1995; ISBN 3334609944.
3. Гапоненко Н.И., Ахмедова Ф.Г., Рамазанова С.С., Гардуллаева М.Ш., Киргизбаева Х.М. Флора грибов Уз-

- бекистана. Т. 1. Мучнисторосяные грибы. – Ташкент: “Фан”, 1983. – 364 с.
4. Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А., и др. Методы экспериментальной микологии. Справочник Киев «Наукова Думка», 1982.
 5. Камилов Ш.Г. Грибы сосудистых растений Ботанического сада АН Узбекистана им. Ф.Н.Русанова.: Автореф. дис.канд.биол.наук.– Ташкент, 1991. – 22 с.
 6. Ячевский А.А. Карманный определитель грибов. Вып. 2. Мучнисторосянные грибы. – Л., 1927. – 630 с.
 7. <http://www.indexfungorum.org/>
 8. <http://www.plantsoftheworldonline.org/>

К ВОПРОСУ ОБ ИНТЕГРИРУЕМОСТИ МЕТОДОВ АЭРОЗОЛЬНОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ И КОМПЛЕМЕНТАРНЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ МОНИТОРИНГА КОНЦЕНТРАЦИИ СПОР РАЗЛИЧНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП ГРИБОВ: ОТ IN SITU МОРФОМЕТРИИ ДО АЭРОЗОЛЬНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ И ЭЛЕМЕНТНОГО МИКРОАНАЛИЗА

Орехов Ф.К.¹, Градов О.В.¹, Жуланов Ю.В.^{2,3}, Макавеев П.Ю.^{1,2,3}

¹ ФИЦ ХФ РАН им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

² ИФА РАН им. А. М. Обухова РАН, Москва

³ НИФХИ им. Л. Я. Карпова, Москва

Существенную проблему современного экологического мониторинга составляет, как правило, непрерывный анализ эмиссии спор грибов, распространяющихся в аэрозольной и форме [1,2]. Обычно проблема решается методами измерений с флуоресцентной меткой, а также методами автоматизированной микроскопии (зачастую также флуоресцентной), при условии дальнейшей обработки видеопотока и выявления числа спор данной таксономии с использованием контурного анализа (например – оператором Собеля-Фельдмана, etc.) или текстурного анализа (например – битовые карты энтропии, контраста, энергии под разным углом вращения) [3,4]. Реже осуществляются аэродинамические измерения, но результаты этих измерений зависят от влажности [5], что коррелирует с жизнеспособностью спор, так как для многих типов спор с ней коррелирует «обводненность» или гидратация оболочки / наличие связанной воды в периферических слоях клеточной стенки. Поэтому анализаторы аэрозольных форм спор нередко можно интегрировать с жидкостными счётчиками, доведя их тем самым до универсализма по возможным средам обитания / нахождения образца [6]. Это хорошо совпадает с конструктивной идеологией аэрогидродинамической жидкостной и аэрозольной цитометрии на базе специализированных универсальных счётчиков [7]. Это направление работ, однако, не может считаться полноценным без определения «химизма», то есть состава и корреляционной зависимости параметров детектируемых спор и условий их существования. Так, в предпоследней цитируемой работе рассматривается вклад спор в атмосферный аэрозольный баланс, причём учитывается как вклад собственных углеводов, так и вклад неорганических ионов, а в работе [8] указывается на вклад спор грибов в содержание органического углерода в атмосфере (теоретически, в определенной мере, экстраполируемо и на субстратосферное пространство, в целом). Итак, являясь компонентом биоаэрозолей, споры способны влиять на химию атмосферы, углеродный баланс и (микро-)климат. Они могут являться центрами конденсации атмосферной влаги, участвуя в процессах дифференциальной седиментации, перемещаться вместе с морскими и пресноводными аэрозолями, а значит – к ним разумно, экстраполируя подходы физики аэродисперсных систем, применить методы анализа таких систем в процессах конденсации [9], седиментации [10], электростатической подвижности капельно-дисперсных аэрозолей в естественных

гидрологических условиях [11,12]. Они, в соответствии с [13], обеспечивают возможность «осуществления анализа аэродисперсных систем по физико-химическому составу», так как «одновременное измерение амплитуды и размера ... частиц ... создает возможность для классификации» (спор) «...по коэффициенту преломления, [то есть] по физико-химическому составу». Однако прямой биохимической / микроаналитической идентификации состава спор получить таким образом невозможно. В силу этого, необходимо инструментально интегрировать методы аэродисперсного анализа на рефрактометрических принципах с иными методами контроля химического состава при прокачке атмосферного воздуха через единый аппарат.

Нами предлагается интеграция аэрозольно-спектрометрических техник спорометрии, применимых в реальной среде, *in situ*, с рядом известных аналитических техник. В рамках идеологии интеграции методов, базирующихся на светорассеянии, и масс-спектрометрии, сопряженной с забором образца из аэрозольной фазы [14], предлагается контролировать в реальном времени (одновременно с измерением размеров аэрозольных частиц) органику в составе спор (и «частиц-кандидатов» на роль спор в выборке аэрозольных частиц) [15,16]. В частности, представляется возможным применение лазерных техник ионизации [17,18]. Для анализа элементного и изотопного (изотопы элементов вызывают расширение и даже полное расщепление некоторых спектральных линий) состава предлагается использовать, кроме ICP-MS, методы атомно-эмиссионной или атомно-абсорбционной спектрометрии с прямым вводом пробы (как и в аэрозольной MS [19]) с развёрткой по длинам волн или на фиксированных длинах волн для выявления отдельных элементов [20,21]. Применение *in situ* методов MS-имэджинга для анализа одиночных частиц также может быть полезным. При этом следует отметить, что оптимальность оптических методов MS-ионизации [18], а также применимость ряда методов оптической спектрометрии в случае анализаторов спор, основанных на оптических источниках, может обуславливаться мультиплексируемостью всех (или существенной части) подобных методов с использованием методов оптического подсчета и анализа свойств спорных частиц, в том числе с машинным обучением анализу спор по эталонным выборкам.

Список литературы

1. Pyrri I., Kapsanaki-Gotsi E. Evaluation of the fungal aerosol in Athens, Greece, based on spore analysis // *Aerobiologia*. – 2015. – V. 31. – Iss. 2. – P. 179-190.
2. Löbs N., Barbosa C.G.G., Brill S., Walter D., Ditas F., de Oliveira Sá M., de Araújo A.C., de Oliveira L.R., Godoi R.H.M., Wolff S., Piepenbring M., Kesselmeier J., Artaxo P., Andreae M.O., Pöschl U., Pöhlker C., Weber B. Aerosol measurement methods to quantify spore emissions from fungi and cryptogamic covers in the Amazon // *Atmospheric Measurement Techniques*. – 2020. – V. 13. – Iss. 1. – P. 153-164.
3. Hummel M., Hoose C., Gallagher M., Healy D.A., Huffman J.A., O'Connor D., Pöschl U., Pöhlker C., Robinson N.H., Schnaiter M., Sodeau J.R., Stengel M., Toprak E., Vogel H. Regional-scale simulations of fungal spore aerosols using an emission parameterization adapted to local measurements of fluorescent biological aerosol particles // *Atmospheric Chemistry and Physics*. – 2015. – V. 15. – Iss. 11. – P. 6127-6146.
4. Wagner J., Macher J. Automated spore measurements using microscopy, image analysis, and peak recognition of near-monodisperse aerosols // *Aerosol Science and Technology*. – 2012. – V. 46. – Iss. 8. – P. 862-873.
5. Madelin T. M., Johnson H. E. Fungal and actinomycete spore aerosols measured at different humidities with an aerodynamic particle sizer // *Journal of applied bacteriology*. – 1992. – V. 72. – Iss. 5. – P. 400-409.
6. Elbert W., Taylor P.E., Andreae M.O., Pöschl U. Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: wet and dry discharged spores, carbohydrates, and inorganic ions // *Atmospheric Chemistry and Physics*. – 2007. – V. 7. – Iss. 17. – P. 4569-4588.
7. Zhulanov Y. V., Makaveev P. Y., Gradov O. V. Towards the aerosol cytometry and hydrosol cytometry based on laser aerosol spectrometers // *IEEE DataPort*. — 2018. — ID: NJAK-QR29.
8. Bauer H., Kasper-Giebl A., Löflund M., Giebl H., Hitzemberger R., Zibuschka F., Puxbaum H. The contribution of bacteria and fungal spores to the organic carbon content of cloud water, precipitation and aerosols // *Atmospheric Research*. – 2002. – V. 64. – Iss. 1-4. – P. 109-119.
9. Жуланов Ю. В., Петрянов И. В., Садовский Б. Ф. Лазерный фотоэлектрический спектрометр больших ядер конденсации // *Физика атмосферы и океана*. — 1978. — Т. 14, № 6. — С. 520-526.
10. Zhulanov Y. V. Sedimentation method for calibrating photoelectric aerosol counters // *Measurement Techniques*. — 1979. — Vol. 22, no. 9. — P. 1138-1139.
11. Жуланов Ю. В., Петрянов И. В. Исследование механизма генерации морских аэрозолей // *Доклады Академии наук*. — 1980. — Т. 253, № 4. — С. 845-848.
12. Жуланов Ю.В., Садовский Б.Ф., Никитин О.Н., Петрянов И.В. Исследование морских субмикронных аэрозолей // *Доклады Академии наук*. — 1978. — Т. 242, № 4. — С. 800-803.
13. Жуланов Ю. В., Садовский Б. Ф., Петрянов И. В. О возможностях оптического метода анализа аэродисперсных систем // *Доклады Академии наук*. — 1978. — Т. 240, № 1. — С. 51-53.
14. Cross E.S., Slowik J.G., Davidovits P., Allan J.D., Worsnop D.R., Jayne J.T., Lewis D.K., Canagaratna M., Onasch T. B. Laboratory and ambient particle density determinations using light scattering in conjunction with aerosol mass spectrometry // *Aerosol Science and Technology*. – 2007. – V. 41. – Iss. 4. – P. 343-359.
15. Xu J., He J., Xu H., Ji D., Snape C., Yu H., Jia C., Wang C., Gao J. Simultaneous measurement of multiple organic tracers in fine aerosols from biomass burning and fungal spores by HPLC-MS/MS // *RSC advances*. – 2018. – V. 8. – Iss. 59. – P. 34136-34150.
16. Zhang Q., Jimenez J.L., Canagaratna M.R., Ulbrich I.M., Ng N.L., Worsnop D.R., Sun Y. Understanding atmospheric organic aerosols via factor analysis of aerosol mass spectrometry: a review // *Analytical and bioanalytical chemistry*. – 2011. – V. 401. – Iss. 10. – P. 3045-3067.
17. Stowers M.A., van Wuijckhuijse A.L., Marijnissen J.C.M., Kientz C. E. Bioaerosol Preselection for Aerosol MALDI Mass Spectrometry // *Journal of Aerosol Science*. – 2003. – V. 2. – P. S947-S948.
18. Zang X., Zhang Z., Jiang S., Zhao Y., Wang T., Wang C., Li G., Xie H., Yang J., Wu G., Zhang W., Shu J., Fan H., Yang X., Jiang L. Aerosol mass spectrometry of neutral species based on a tunable vacuum ultraviolet free electron laser // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2022. – V. 24. – Iss. 27. – P. 16484-16492.
19. Johnston M. V. Sampling and analysis of individual particles by aerosol mass spectrometry // *Journal of Mass Spectrometry*. – 2000. – V. 35. – Iss. 5. – P. 585-595.
20. Nash D. G., Baer T., Johnston M. V. Aerosol mass spectrometry: An introductory review // *International Journal of Mass Spectrometry*. – 2006. – V. 258. – Iss. 1-3. – P. 2-12.
21. Kawaguchi H., Nomizu T., Tanaka T., Kaneco S. Direct analysis of aerosol particles by atomic emission and mass spectrometry // *Analytical Science and Technology*. – 1995. – V. 8. – Iss. 4. – P. 411-418.

РОЛЬ МИКРОМИЦЕТОВ В ЭКОЛОГИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННЫХ
АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ В ПОЛЯРНЫХ РЕГИОНАХПанин А.Л.¹, Краева Л.А.^{1,2}, Власов Д.Ю.^{3,5}, Сбойчаков В.Б.², Горбунов Г.А.⁴,Левандо К.К.⁴, Кирицидели И.Ю.⁵¹Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера²Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург³Санкт-Петербургский государственный университет⁴Арктический и антарктический научно-исследовательский институт, Санкт-Петербург⁵Ботанический институт имени В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

На современном этапе арктический регион становится одним из центров пересечения геостратегических интересов и выстраивания новой системы обеспечения глобальной и региональной безопасности. Одной из ключевых задач государственной политики России в области медицинского обеспечения в Арктике является изучение влияния экстремальных факторов окружающей среды на человека, развитие видов медицинской помощи, направленных на сохранение и укрепление здоровья населения, устранение вредного влияния факторов среды обитания, предупреждение возникновения и распространения заболеваний, раннее выявление их причин и условий развития, формирование и реализация программ здорового образа жизни [1]. Вместе с тем, и Антарктика продолжает оставаться в сфере российских государственных интересов, несмотря на существенную географическую удаленность.

Аллергические заболевания имеют региональные особенности, связанные с климатогеографическим своеобразием каждого края, этническими особенностями, характером питания и индивидуальной реактивностью [2]. Экологически обусловленные заболевания – это болезни, развивающиеся среди населения определенной территории под воздействием на людей вредоносных физическо-химических и иных неспецифических факторов.

Среди микроорганизмов, способных оказывать влияние на человека и вызывать различные заболевания, особое место принадлежит грибам. Выделяют три основных типа поражения ими человека: отравления (микотоксикоз), микогенная аллергия и инфекция (микозы) [3]. Аллергены находятся в спорах и мицелии грибов, которые могут проникать в организм человека ингаляционно, энтерально и вызывать контактную реакцию. Споры диаметром 3-30 мкм проникают в респираторный тракт, что приводит к возникновению ринита, синусита, бронхиальной астмы, аллергического бронхолегочного аспергиллеза или гиперсенситивного пневмонита. Особый вид микогенной сенсибилизации происходит при дерматофитиях и кандидозе кожи. Чтобы подчеркнуть роль микромицетов в развитии аллергических заболеваний, в 1983 году в Гамбурге экспертами ВОЗ предложен термин «микоаллергозы» [4].

В настоящее время насчитывается более сотни видов грибов, в отношении которых установлена способность вызывать аллергию у людей. Несмотря на наличие многих действующих факторов в патогенезе микоаллергозов, не менее важным из них следует считать экологический фактор [5].

Споры микромицетов могут стать предрасполагающим фактором в развитии таких заболеваний, как бронхиальная астма, атопический дерматит, аллергический риноконъюнктивит. Для диагностики этой патологии традиционно определяют уровень общего IgE и специфических IgE к респираторным аллергенам, в том числе грибам *Alternaria spp.*, *Cladosporium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* [6].

Так, для оценки микосенсибилизации у взрослого населения Мончегорского промышленного района использовались сведения о числе заболеваний в 2012–2015 годах: органов дыхания — аллергический ринит, хронические фарингит и бронхит, бронхоэктатическая болезнь, астма и астматический статус; кожи и подкожной клетчатки: атопический и контактный дерматит. Аллергический ринит был выявлен в 20,1% случаев. Хронические обструктивные заболевания легких обнаружены у значительной части заболевших: хронические бронхит – 39,5% и некротический легочный аспергиллез – 1,9%; бронхиальная астма – 37,2%, аллергический бронхолегочный аспергиллез – 1,3% [7].

Климатические факторы северных территорий целесообразно подразделять на специфические и неспецифические. К последним факторам, имеющимся и в других регионах Земли, относятся холод, низкая абсолютная и высокая относительная влажность, особый аэродинамический режим. Специфические факторы — это изменения фотопериодизма, особенности электромагнитной природы (полярное сияние, как крайнее проявление), колебания атмосферного давления. Причем их отрицательное воздействие невозможно блокировать социальными и другими мерами защиты [1].

Предлагаем гипотезу о возможной связи распространенности микогенной аллергии с климатогеографическими условиями: низким уровнем инсоляции в северных краях и наличием полярной ночи в этих регионах, более выраженного стресса из-за средовых воздействий высоких широт (по В.П. Казначееву и С.Т. Пашину – синдром «северного» или «полярного» напряжения), а также полигиповитаминозов водорастворимых витаминов (в первую очередь витамина D). Так продолжительность полярной ночи на северном полюсе достигает предела и длится 178 суток (с 25. 09 до 17. 03). На широте 80° полярная ночь продолжается с 21. 10 по 20. 02. В Антарктиде полярная ночь длится 176 суток (с 17. 04 по 26. 08). Когда наступает темнота и пропадает солнечный свет, организм человека не получает такие полезные вещества, как мелатонин, серотонин и нарушается усвоение витамина D. В результате этого происходит резкое падение уровня врожденного иммунитета, повышается метеочувствительность, обостряются хронические заболевания.

Немаловажным следует считать и тот факт, что в высоких широтах грибы возникают не на пустом месте. Причиной образования плесени в жилищах Крайнего Севера является систематическое образование конденсата по причине нарушения теплоизолирующей способности ограждающих конструкций (переохлаждение стен). Повышенная их влажность способствует интенсивному развитию плесневых грибов и многолетнему поддержанию их жизнеспособности. Это создает благоприятные условия для их роста и размножения. При наличии выявленных технических недостатков (переохлаждения стен) плесневое поражение

имеет неустраняемый характер и возникает повторно [8,9]. Поэтому по рекомендации врачей экспедиций в Арктике полностью был заменён жилой комплекс станции Мыс Баранова, в котором после длительной консервации наблюдалось биологическое поражение всех помещений микромицетами. Такая же ситуация отмечается и на полевых базах Антарктиды, которые восемь месяцев не используются.

Под термином «микогенная аллергия» понимают клинические проявления аллергических реакций, которые развиваются вследствие контакта с аллергенами грибов. Данные о её распространённости варьируют от 1,1 до 64%. Результаты исследований свидетельствуют, что частота микогенной аллергии среди больных с атопией составляет 44%, а среди больных бронхиальной астмой – 80%. Уровень микоаллергозов может колебаться в зависимости от генетических особенностей обследованных групп населения и климатогеографических особенностей. Например, у больных бронхиальной астмой от 5% в Европе до 40% в США [4].

Заболеваемость дерматозами народов Крайнего Севера тесно связана с образом жизни, традиционными промыслами (оленоводство, рыболовство, сбор дикоросов), воздействием неблагоприятных климатических факторов и вредного влияния промышленных предприятий на хрупкую природу, где процессы самоочищения резко замедлены. Наряду с проблемой антропогенного и техногенного загрязнения окружающей среды большинства регионов Севера существует и проблема широкого распространения различных биогеохимических аномалий, среди которых ведущее место принадлежит природному дефициту йода [10].

В условиях Республики Саха (Якутия) территориальные проблемы многократно увеличиваются в связи с низкой плотностью населения, удаленностью населенных пунктов, суровостью природно-климатических условий, плохой обеспеченностью необходимыми продуктами. Например, зафиксирована высокая распространённость аллергических заболеваний у жителей поселка Себян Кюель, изолированного от других населенных пунктов, где у коренного населения питание однообразное, в рационе в основном присутствуют оленина и консервы.

Обследованы 60 мужчин и 80 женщин в возрасте от 18 до 70 лет методом накожных тестов к «стандартному набору», но без аллергенов микромицет?

Выявлена высокая заболеваемость аллергической патологией. Так бронхиальная астма обнаружена у 10% в разной форме обследованных – у 9 (64%) отмечалась легкое течение, у 3 (22%) человек выявлено среднетяжелое и у 2 (14%) – тяжелое течение. Отмечены следующие факторы, влияющие на формирование патологии: у 100% обследованных было печное отопление, частое употребление консервов, рафинированных продуктов и однообразное питание; проживание в домах старой застройки (60%), пораженных плесневыми грибами, а также курение (50%) [11].

Итак, жизнедеятельность в экстремальных условиях высоких широт является причиной формирования патологии населения, в том числе и микоаллергозов. Их изучение, разработка безопасных препаратов и методов для

выявления грибковой сенсибилизации лиц, контактирующих с ними, является актуальной задачей. При проведении аллергологического обследования в Арктике и Антарктике необходимо стремиться учитывать аллергены микромицет, бороться с биологическими поражениями помещений плесневыми грибами.

Список литературы

1. Гудков А.Б., Попова О.Н., Небученных А.А., Богданов М.Ю. Эколого-физиологическая характеристика климатических факторов Арктики // Морская медицина. – 2017. – Том 3, № 1. – С.7-13
2. Дитко А. М., Грэммер Л. К. Пищевая аллергия // В кн.: Р. Паттерсон и др. «Аллергические болезни. Диагностика и лечение» Москва: ГЭОТАР. Медицина, 2010. С. 274-296.
3. Кузикова И.Л., Медведева Н.Г. Оппортунистические грибы – контаминанты среды обитания человека и их потенциальная патогенность // Экология человека 2021, № 3, С. 4–14.
4. Козлова Яна Игоревна Микогенная аллергия у жителей помещений, поражённых микромицетами: дис. кандидат медицинских наук: 03.00.24 – Микология. СПб. 2008. 112 с.
5. Зачиняева А.В., Зачиняев Я.В. Характер микогенной сенсибилизации у жителей северных регионов России // Профилактическая медицина. Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – 2017. – С. 256-262.
6. Fukutomi Y., Taniguchi M. Sensitization to fungal allergens: Resolved and unresolved issues. Allergol. Int. – 2015. – Vol. 64, Iss. 4. – P. 321-331.
7. Зачиняева А.В., Зачиняев Я.В. Характер микогенной сенсибилизации у жителей северных регионов России // Профилактическая медицина. Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – 2017. – С. 256-262.
8. Богомоллова Е.В. Биоповреждение мобильных зданий на Крайнем Севере // Строительные материалы, оборудование, технологии XXI века. – 2018, № 5-6. – С. 232-233.
9. Власов Д.Ю., Тешебаев Ш.Б., Зеленская М.С., Кирцидели И.Ю., Рябушева Ю.В. Микологическое поражение материалов в помещениях как фактор риска для здоровья полярников // Гигиена и санитария. – 2019. – Т. 98. – № 1. – С. 17-21.
10. Цай А.В., Ефанова Е.Н., Русак Ю.Э. Проблемы здравоохранения селькупов — одного из малочисленных народов Севера / Материалы II Всероссийской научно-практической конференции «Север России: стратегии и перспективы развития», г. Сургут. 2016. – С. 241-244.
11. Иванова О.Н. Заболеваемость аллергической патологией взрослого населения села Себян Кюель Республики Саха (Якутия) // Современные проблемы науки и образования. – 2018. № 6. – С. 12-19.

АГАРИКОИДНЫЕ МАКРОМИЦЕТЫ В УСЛОВИЯХ ЛЕДНИКОВОГО ЛАНДШАФТА (СРЕДНЯЯ ПОДЗОНА ТАЙГИ, РЕСПУБЛИКА КАРЕЛИЯ)

Предтеченская О.О.

Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Исследования биоты агарикоидных макромицетов ведутся в Карелии с начала 1930-х годов, с 1950-х гг. проводится систематическое изучение микоризообразующих грибов, а с 2000-х годов идет активная работа по обследованию действующих и планируемых особо охраняемых территорий. Помимо этого, в последнее десятилетие проведена инвентаризация видового состава агарикоидных грибов коренных и производных лесов республики (Крутов и др., 2013; Tikkanen et al., 2017), проанализированы особенности и этапы восстановления шляпочных грибов на вырубках различной давности (Предтеченская, Руоколайнен, 13). Впервые попытка проанализировать приуроченность видового состава грибов к различным типам ландшафта была предпринята в 2017-2020 гг. при проработке темы «Производные леса ландшафтов запада таежной зоны России: история формирования, динамика, биоразнообразие» (Производные леса..., 2020).

По результатам проведенных в последнее время ревизий списков видов агарикоидных макромицетов на территории Карелии обнаружено 777 видов, относящихся к 115 родам, 32 семействам.

В 2021 году исследования приуроченности видового состава грибов к различным типам ландшафта были продолжены, проведена оценка видового состава агарикоидных грибов в условиях ландшафта ледникового и водно-ледникового холмисто-грядового среднезаболоченного с преобладанием еловых местообитаний (далее – ледниковый ландшафт). Было проведено обследование сильно трансформированных сообществ на территории г. Петрозаводска в пойме р. Лососинка и в лесах, сформировавшихся на вырубках из-под ельников черничных давностью 10-30 лет, где в процессе рубки были оставлен подрост или тонкомер ели (Прионежский и Пряжинский районы Республики Карелия). Сбор плодовых тел базидиомицетов выполнялся в августе-сентябре 2021 г. в сроки массового плодоношения. Систематическое положение и объем групп грибов приведены в соответствии с базой данных Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>, август 2022 г.).

В 2021 году в период с начала августа до середины сентября в условиях ледникового ландшафта зарегистрированы 127 видов агарикоидных базидиомицетов из 53 родов, 28 семейств (табл. 1). Наибольшее видовое разнообразие отмечено в семействах Cortinariaceae (25 видов) и Russulaceae (19 видов), Мусенасеae и Boletaceae (по 9 видов), Tricholomataceae (8 видов), что в целом характерно для Ка-

релии. Представленность видов в других семействах невелика.

Погодные условия 2021 г. – длительный засушливый период с экстремально высокими для южной Карелии температурами (выше 30°C) в июле-августе – создали условия для массового плодоношения видов грибов, включенных в Красную книгу Республики Карелия (2020) – паутинников карминно-красного (*Cortinarius sanguineus* (Wulfen) Gray) и фиолетового (*Cortinarius violaceus* (L.) Gray); достаточно часто встречались зонтик золотистый (*Phaeolepiota aurea* (Matt.) Maire), строфария сине-зеленая (*Stropharia aeruginosa* (Curtis) Qué.), чешуйчатка обыкновенная (*Pholiota squarrosa* (Vahl) P. Kumm.), а также в условиях ледникового ландшафта были отмечены плодовые тела крайне редкого в Карелии польского гриба (*Imleria badia* (Fr.) Vizzini). Было отмечено и массовое плодоношение лисичек серой (*Craterellus cornucopioides* (L.) Pers.) и трубковидной (*Craterellus tubaeformis* (Fr.) Qué.) – видов шляпочных микоризообразующих грибов, традиционно учитываемых в списках афиллофороидных макромицетов.

Анализ трофической структуры показал, что основная часть агарикоидных макромицетов представлена микоризообразующими грибами (56 %), что характерно для лесов бореальной зоны. В группе сапротрофов доминируют деревообитающие (21 %) и подстилочные сапротрофы (11 %). Среди микоризообразователей преобладают моновалентные симбионты березы (23 %), сосны (21 %), а также поливалентные микоризообразователи, связанные с сосной и березой (17 %). Доля моновалентных микоризообразователей ели составляет 12 %.

На обследованной территории значительная часть видов относится к съедобным и условно съедобным, т. е. требующим предварительной специальной обработки перед употреблением в пищу, грибам (60 видов). При этом необходимо отметить, что большая часть населения Карелии традиционно использует в пищу лишь около 30 видов грибов. К несъедобным и грибам с невыясненными свойствами относятся 52 вида, остальные считаются ядовитыми.

В целом, обследованная территория сильно трансформированных лесных сообществ характеризуется невысоким видовым разнообразием агарикоидных макромицетов (примерно 16 % от общего числа видов, зарегистрированных в Карелии). Тем не менее, здесь отмечены 6 из 16 видов агарикоидных макромицетов, включенных в Красную книгу Республики Карелия (2020).

Таблица 1 — Структура биоты агарикоидных базидиомицетов

Семейство	Всего видов по родам	Семейство	Всего видов по родам
Порядок Agaricales		Порядок Agaricales	
Agaricaceae	Cystoderma (1), Lepiota (1), Phaeolepiota (1)	Psathyrellaceae	Psathyrella (1)
Amanitaceae	Amanita (5)	Sarcomyces	Sarcomyxa (1)
Cortinariaceae	Cortinarius (25)	Strophariaceae	Hypholoma (2), Kuehneromyces (1), Pholiota (2), Stropharia (2)
Crepidotaceae	Crepidotus (1)	Tricholomataceae	Clitocybe (3), Collybia (1), Infundibulicybe (1), Tricholoma (1), Tricholomopsis (2)
Entolomataceae	Entoloma (3)	Tubariaceae	Flammulaster (1), Tubaria (1)
Hydnangiaceae	Laccaria (3)	Порядок Boletales	
Hygrophoraceae	Ampulloclitocybe (1), Arrhenia (1), Gliophorus (1), Hygrocybe (1)	Boletaceae	Boletus (3), Imleria (1), Leccinum (4), Xerocomus (1)
Hymenogastraceae	Galerina (2), Gymnopilus (1), Naucoria (1)	Gomphidiaceae	Gomphidius (1)
Inocybaceae	Inocybe (2), Pseudosperma (1)	Hygrophoropsidaceae	Hygrophoropsis (1)
Mycenaceae	Mycena (7), Panellus (1), Xeromphalina (1)	Paxillaceae	Paxillus (1)
Omphalotaceae	Gymnopus (2), Marasmiellus (1), Mycetinis (1)	Strobilomycetaceae	Chalciporus (1)
Phyllotopsidaceae	Phyllotopsis (1)	Suillaceae	Suillus (3)
Physalacriaceae	Armillaria (3)	Tapinellaceae	Tapinella (1)
Pleurotaceae	Nothopanus (1), Pleurotus (2)	Порядок Russulales	
Pluteaceae	Pluteus (1)	Russulaceae	Lactarius (13), Russula (6)
Всего родов (видов) – 53 (127)			

Всего родов (видов) – 53 (127)

Список литературы

1. Крутов В.И., Руоколайнен А.В., Предтеченская О.О., Шубин В.И., Фадеева М.А. Микобиота коренных и производных лесов Восточной Финноскандии: видовое разнообразие, субстратно-биотопическая приуроченность и функциональное значение // Биологическое разнообразие лесных экосистем / Отв. ред. А.С. Исаев. – М.: Наука, 2013. – С. 329-372.
2. Tikkanen O.-P., Predtechenskaya O., Ruokolainen A., Heikkilä R. Recovery of functional groups of fungi and wood-decaying species of conservation concern after variable intensity forest utilization // European Journal of Forest Research. – 2017. – Vol. 136, Is. 5-6. –P. 827-837. – DOI: 10.1007/s10342-017-1073-0
3. Предтеченская О.О., Руоколайнен А.В. Структура биоты макромицетов на ранних этапах послерубочной сукцессии // Труды КарНЦ РАН. – 2013. – № 6. – С. 27-37
4. Производные леса ландшафтов запада таежной зоны России: история формирования, динамика, биоразнообразие: Отчет о НИР/ ВНИЦЦентр; Руководитель А.Н. Громцев. - № ГР АААА-А20-120100190116-0; Рег. № 221040900109-6. Петрозаводск, 2020. 200 с.
5. Красная книга Республики Карелия / Гл. редактор О. Л. Кузнецов. Белгород: Константа, 2020. 448 с.

ФИТОТРОФНАЯ ОБЛИГАТНО-ПАРАЗИТНАЯ МИКОБИОТА ПАРКА КУЛЬТУРЫ И ОТДЫХА ИМЕНИ ЮРИЯ ГАГАРИНА (Г. СИМФЕРОПОЛЬ)

Присянникова И.Б.

ФГАОУ ВО Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского, Симферополь

В настоящее время одним из основных направлений современной градостроительной деятельности заключается в обеспечении благоприятных условий проживания для горожан при учете экологических и природных особенностей городских территорий (Градостроительный кодекс РФ, 2015). Известно, что Крым отличается наличием многочисленных природно-климатических, социально-экономических и культурно-исторических ресурсов, многие из которых можно использовать для развития туристско-рекреационной деятельности. Наличие таких разнообразных ресурсов на полуострове позволяют развивать различные виды туризма. Наибольшую ценность для восстановления организма человека представляют ландшафтно-климатические ресурсы, предназначенные для озеленения городов и сел Крыма с целью создания более благоприятной для проживания человека среды обитания (Кузьмина, 2017). Процесс градостроительного освоения столицы Крыма – г. Симферополя, в целом, связан с созданием городских объектов озеленения: садов, парков и скверов. Зеленый наряд города формировался на протяжении более чем двух столетий, пережил немало драматических моментов и в настоящее время продолжает претерпевать существенные изменения. В настоящее время парк культуры и отдыха имени Юрия Гагарина города Симферополя является одной из составных частей культурного городского ландшафта. Датой создания парка принято считать 19 октября 1965 года. По первоначальному проекту территория парка должна была составить 70 га. В варианте фактического исполнения она сократилась до 50 га и, к сожалению, в настоящее время площадь парка сократилась и составляет 36,0173 га.

Введение в культуру новых видов растений-интродуцентов обуславливает привнесение сопутствующих им патогенных микромицетов, ранее не регистрируемых на этой территории. Для предупреждения эпифитотийного распространения паразитных грибов, необходима полная инвентаризация их видового состава и постоянное наблюдение за их развитием и распространением на растениях. В настоящее время это является актуальной научной проблемой. Среди грибов, вызывающих инфекционные заболевания, наибольший вред паркам г. Симферополя приносят облигатно-паразитные фитотрофные микромицеты из

порядков: мучнисторосяные, ржавчинные и пероноспорые грибы, гораздо реже на растениях обнаруживаются головневые грибы. Для диагностики болезней зеленых насаждений и поддержания декоративных свойств коллекций растений необходимо периодическое проведение фитопатологического мониторинга. Кроме того, в результате выращивания ряда монокультур на территории парка, особенно интродуцированных видов и сортов, некоторые заболевания растений могут принимать форму эпифитотий.

Сбор образцов облигатных паразитов высших растений производился в течение осени 2018 года и вегетационного сезона 2019-2020 гг. маршрутно-экспедиционным методом в растительных сообществах парка. Видовую идентификацию фитопатогенов проводили с использованием отечественных и зарубежных определителей и справочной литературы (Дудка и др., 2004; Купревич, Ульянищев, 1975; Ульянищев, 1978; Станявичене, 1984; Гелюта, 1989; Каратыгин, Азбукина, 1989; Termorshuizen, 2011; Braun, 2012). Таксономический статус видов грибов и грибоподобных организмов приведен согласно базам Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections (<https://nt.ars-grin.gov/fungal-databases/>), «Mycobank» (<http://www.mycobank.org>) и «Index Fungorum» (<http://www.indexfungorum.org>); видовые названия и таксономическое положение растений-хозяев представлены в соответствии со сводкой «The Plant List» (<http://www.theplantlist.org>). Больные растения или их части гербаризировали с составлением стандартных этикеток [Благовещенская, 2015]. Материал исследовали методом световой микроскопии с помощью микроскопов прямого CX31RTSF, Olympus (Филиппины) и стереоскопического SZN71, Soptop (Китай).

В результате проведенного микологического исследования на территории парка культуры и отдыха имени Юрия Гагарина (г. Симферополь) обнаружено 49 видов из 17 родов, 10 семейств и 7 порядков, 6 классов паразитных микромицетов, принадлежащих двум отделам настоящих грибов и одному отделу грибоподобных организмов (табл. 1).

Таблица 1

Таксономический состав облигатно-паразитной фитотрофной микобиоты парка культуры и отдыха имени Юрия Гагарина (г. Симферополь)

Отдел грибов и ГРПО	Количество				Доля от общего числа родов, %	Количество видов	Доля от общего числа видов, %
	классов	порядков	семейств	родов			
Oomycota	1	1	1	2	11,7	2	4,0
Ascomycota	4	5	7	10	58,8	31	63,3
Basidiomycota	1	1	2	5	29,4	16	32,7
Всего	6	7	10	17	100	49	100,0

Выявлено, что доминирующим по количеству видов является отдел *Ascomycota* – 31 вид и 10 родов (63,3% и 58,8%, соответственно), второе место занимает отдел *Basidiomycota* – 16 видов и 5 родов (32,7% и 29,4%) и на третьем месте находится отдел *Oomycota* (грибоподобные организмы (ГРПО)) – 2 вида и 2 рода (4,0% и 11,7%, соответственно) (табл. 1).

Видовой состав фитотрофной облигатно-паразитной микобиоты парка культуры и отдыха имени Юрия Гагарина (г. Симферополь) представлен в расположенном ниже списке. Для каждого вида микромицета в скобках отмечен показатель обилия (встречаемость) по шкале Гааса: 4 – во многих местах; 3 – неравномерно, рассеянно; 2 – очень рассеянно; 1 – единично; (+) – только в одном месте (один экземпляр или одна группа, скопление) (Леонтьев, 2008).

Отдел Oomycota, класс Oomycetes, порядок Albuginales, семейство Albuginaceae: *Albugo candida* (Pers.) Roussel (+); *Wilsoniana bliti* (Biv.) Thines (+).

Отдел Ascomycota, класс Leotiomycetes, порядок Erysiphales, семейство Erysiphaceae: *Blumeria graminis* (DC.) Speer (4); *Golovinomyces cichoracearum* (Ehrenb.) Heluta (2); *G. depressus* (Wallr.) Heluta (3); *G. cynoglossi* (Wallr.) Heluta (+); *Erysiphe alphitoides* var. *alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam. (2); *E. platani* (Howe) U. Braun & S. Takam. (+); *E. polygoni* DC. (3); *E. corylacearum* U. Braun & S. Takam. (+); *E. berberidis* var. *berberidis* DC. (+); *E. cruciferarum* Opiz ex L. Junell (+); *E. aquilegiae* DC. (2); *E. macleayae* R.Y. Zheng & G.Q. Chen (+); *E. convolvuli* DC. (1); *E. trifolii* Grev. (3); *Neoerysiphe galeopsidis* (DC.) U. Braun (4); *Phyllactinia fraxini* (DC.) Fuss (1); *Ph. guttata* (Wallr. : Fr.) Lév. (+); *Podosphaera fusca* (Fr. : Fr.) U. Braun & S. Takam. (2); *P. pannosa* (Wallr. : Fr.) de Bary (1); *P. aphansis* (Wallr.) U. Braun (1); *P. leucotricha* (Ellis & Everh.) E.S. Salmon (1); *P. plantaginis* (Castagne) U. Braun & S. Takam. (4); *Sawadaea bicornis* (Wallr. : Fr.) Miyabe (3); порядок Helotiales, семейство Drepanopezizaceae: *Diplocarpon rosae* F.A. Wolf (1); порядок Rhytismatales, семейство Rhytismataceae: *Rhytisma acerinum* (Pers. : Fr.) Fr.(+); класс Sordariomycetes, порядок Diaporthales, семейство Gnomoniaceae: *Ophiognomonia leptostyla* (Fr. : Fr.) Sogonov (+); класс Dothideomycetes, порядок Mycosphaerellales, семейство Mycosphaerellaceae: *Septoria populi* Desm. (+); *Ramularia lactea* (Desm.) Sacc. (+); порядок Pleosporales, семейство Pleosporaceae: *Alternaria solani* Sorauer (+); семейство Phaeosphaeriaceae: *Ampelomyces quisqualis* Ces. (+); семейство Didymellaceae: *Boeremia exigua* (Desm.) Aveskamp, Gruyter & Verkley (=Ascochyta *potentillarum* Sacc.) (+).

Отдел Basidiomycota, класс Pucciniomycetes, порядок Pucciniales, семейство Pucciniaceae: *Aecidium ranunculi-acris* Pers (+); *Cumminsia mirabilissima* (Peck) Nannf. (+); *Puccinia brachypodii* G.H. Otth (1); *P. calcitrapae* DC. (2); *P. menthae* Pers. (+); *P. caricis* Rebent. (2); *P. graminis* subsp. *graminis* Pers. (2); *P. malvacearum* Bertero ex Mont. (+); *P. poarum* P. Nielsen (+); *P. hordei* G.H. Otth (+); *P. recondita* Roberge ex Desm. (1); *P. poae-pratensis* Miura (4); (1); *P. coronata* Corda (1); семейство Melampsoraceae: *Melampsora rostrupii* G.H. Wagner (1); *M. allii-populina* Kleb. (4); *Uromyces polygoni-avicularis* (Pers. : Pers.) P. Karst. (+).

Исходя из данных вышеприведенного списка, ведущую роль играют представители отдела Ascomycota, а именно: род *Erysiphe* из семейства Erysiphaceae, порядка Erysiphales, класса Leotiomycetes. Порядок Мучнисторосые грибы (Erysiphales) представлен 23-мя видами из девяти родов: *Erysiphe* – 10 видов, *Podosphaera* – 5, *Golovinomyces* – 3, *Phyllactinia* – 2, *Neoerysiphe* – 1, *Sawadaea* – 1 и *Blumeria* – 1. Грибоподобные организмы из отдела Oomycota представлены двумя видами из двух родов: *Wilsoniana*, *Albugo*, относящихся к семейству Albuginaceae, порядку Albuginales, классу Oomycetes, отделу Oomycota. Порядок Ржавчинные грибы (Pucciniales) представлен 16-ю видами из пяти родов: *Puccinia* – 11 видов, *Melampsora* – 2, *Uromyces* – 1, *Aecidium* – 1, *Cumminsia* – 1. В препаратах *Podosphaera leucotricha* на листьях *Malus domestica* был обнаружен гриб *Ampelomyces quisqualis* Ces., проявляющий свойства микопаразита мучнисторосых грибов. Являясь гиперпаразитом, *Amp.*

quisqualis, перезимовывает или сохраняется на растительных остатках без питающего субстрата в виде пикнид и в течение вегетационного периода может формировать несколько поколений гриба-микопаразита *Amp. quisqualis*, развивающегося на различных видах эризифальных грибов.

Список литературы

1. Градостроительный кодекс Российской Федерации от 29.12.2004 N 190-ФЗ (ред. от 11.06.2021) Консультант плюс [Электронный ресурс]. Режим доступа к сайту: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_51040/
2. Кузьмина, А. С. История озеленения общественных пространств города Симферополя // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Проблемы и перспективы развития современной ландшафтной архитектуры. Изд-во: Общество с ограниченной ответственностью «Издательство Типография «Ариал» (Симферополь) 2017. – С. 61–65. [Электронный ресурс]. Режим доступа к сайту: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30204754>
3. Дудка, I. O. Грибы природных зон Криму / I. O. Дудка, В. П. Гелюта, Ю. А. Тихоненко, Т. В. Андрианова, В. П. Гайова, М. П. Придюк, В. В. Джаган, В.П. Ісіков. – Киев: Фітосоціоцентр, 2004. – 452 с.
4. Купревич, В. Ф., Определитель ржавчинных грибов СССР / В. Ф. Купревич, В. И. Ульянищев. – Минск: Наука и техника, 1975. – Ч. 1. – 485 с.
5. Ульянищев, В. И. Определитель ржавчинных грибов СССР / В. И. Ульянищев – Л.: Наука, 1978. – Ч. 2. – 384 с.
6. Станявичене, С. А. Пероноспорные грибы Прибалтики / С. А. Ставичене. – Вильнюс: Моклас, 1984. – 208 с.
7. Гелюта, В. П. Флора грибов Украины. Мучнисторосые грибы / В. П. Гелюта. – Киев: Наук. думка, 1989 – 256 с.
8. Каратыгин, И.В. Определитель грибов СССР. Порядок Головневые. Семейство Устилаговые / И. В. Каратыгин, З. М. Азбукина. – Л.: Наука, 1989. – Вып. 1. – 220 с.
9. Азбукина, З. М. Порядок Ржавчинные. 1. Семейства Пукциниастровые, Кронарциевые, Мелампсоровые, Факоспоровые, Чакониевые, Микронегериевые (Определитель грибов России) /З.М. Азбукина. – Владивосток : Дальнаука, 2015. – 281 с.
10. Termorshuizen, A. J. Roesten van Nederland / A. J. Termorshuizen, C. A. Swertz. – Dutch Rust Fungi, 2011.- 423 p.
11. Braun, U. Taxonomic Manual of the Erysiphales (Powdery Mildews) / U. Braun, R. T. A. Cook. // CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands, 2012. – Vol. 11. - 707 p.
12. Благовещенская, Е. Ю. Фитопатогенные микромицеты: учебный определитель /Е. Ю. Благовещенская. – М.: ЛЕНАНД, 2015. – 240 с.
13. Леонтьев, Д. В. Флористический анализ в микологии: учебник/ Д. В. Леонтьев. – Х.: Изд. группа «Основа», 2007. – 159 с.

СВОЙСТВА ШТАММОВ ГРИБА *LAETIPORUS SULPHUREUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ В ЗЕЛЕНых МАССИВАХ ГОРОДА МИНСКА

Пучкова Т. А., Максимов А. С.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Ксилотрофный базидиомицет *Laetiporus sulphureus* Bull.: *Fr. Murr* или серно-жёлтый трутовик распространен в странах Европы, Азии и Северной Америки. Он растет как сапротроф на пнях и упавших бревнах, а также как паразит на стволах лиственных пород деревьев, среди которых ива, липа, дуб, бук, каштан, тополь, берёза. В литературе из-за оранжево-желтого цвета и каплевидной форм молодых плодовых тел он также известен как «лесной цыпленок».

L. sulphureus размножается базидиоспорами, которые формируются в плодовых телах, вегетативно с помощью фрагментов мицелия или его видоизмененных клеток – хламидоспор. Заражение дерева происходит, когда споры попадают через трещины и раневые повреждения в коре. Мицелий прорастает и развивается в сердцевине дерева. В её трещинах иногда видны тонкие нити белого мицелия.

Спустя несколько лет после заражения дерева в трещинах коры при благоприятных условиях появляются однолетние, мягкие плодовые тела. Сначала они выглядят как капли теста ярко-жёлтого или оранжевого цвета. Затем они приобретают характерную для трутовиков форму, более темную окраску, постепенно твердеют. Зрелые плодовые тела состоят из сидячих шляпок в форме уха с волнистыми краями размером 10-40 см, которые прикрепляются к дереву боковой частью. Гименофор у них трубчатый, серо-желтого цвета. Внутренняя мякоть карпофора белая или светло-желтая. Плодовые тела растут на стволе дерева крупными сростками. Плодовые тела на зараженном дереве появляются при благоприятных условиях и не каждый год, в то время как рост мицелия в древесине продолжается.

Развитие мицелия гриба в сердцевине древесины длится до 10 лет. Гриб разрушает в первую очередь целлюлозу и вызывает бурую гниль. Поперек древесных волокон образуются трещины. Древесина разламывается на короткие, кубические куски и темнеет счет увеличения относительного содержания лигнина. Это приводит к потере прочности древесины. Пораженное дерево может упасть при сильном порыве ветра [1-3].

L. sulphureus распространен на всей территории Республики Беларусь. В том числе, он встречается в зеленой зоне города Минска: парках, дворах, набережных, вдоль дорог. Гриб чаще всего заражает старые ивы, растущие вблизи водоемов. Плодовые тела появляются с мая по сентябрь при температуре не выше 25 °С и высокой влажности воздуха. В связи с потеплением климата распространение данного гриба увеличивается. Пораженные деревья теряют прочность и ветроустойчивость. Поэтому изучение распространения и свойств гриба является актуальной задачей.

В 2020 – 2022 годах в городе Минске плодовые тела *L. sulphureus* встречались в зеленых массивах на берегу реки Свислочь и городских парках на деревьях ивы и черемухи маака. Плодовые тела с деревьев собирали, а затем в лаборатории проводили выделение мицелия в чистую культуру. Для этого их обрабатывали 3% раствором перекиси водорода и 70% спиртом и разламывали. В местах разломов стерильно вырезали кусочки размером около 0,5 см, которые помещали в чашки Петри на картофельно-глюкозную агаризованную питательную среду с добавлением стрептоми-

цина. Чашки инкубировали при температуре 23-25 °С до появления роста мицелия. При отсутствии на поверхности среды контаминирующих микроорганизмов вырезали агаровые блоки с мицелием, помещали их на отдельные чашки с картофельно-глюкозной средой и инкубировали при той же температуре.

Всего из собранных в разных местах плодовых тел в чистую культуру выделено 5 изолятов гриба. На агаризованных питательных средах их мицелий рос в виде радиальных опушенных колоний высотой 10-15 мм с ровным краем и более плотным центром. Цвет колоний у разных изолятов варьировал от светло-желтого до желто-оранжевого. На реверзуме колоний цвет среды не изменялся. Изоляты отличались скоростью роста мицелия.

Чтобы убедиться в чистоте культур грибов, проводили окрашивание фиксированных препаратов мицелия 3 %-ным раствором метиленового синего и микроскопировали с иммерсионным объективом $\times 100$. При микроскопировании наблюдались относительно толстые, ветвящиеся, септированные гифы без пружек. В микроскопическом препарате старых культур мицелия наблюдались видоизмененные округлые клетки с толстыми стенками – хламидоспоры. Наблюдаемые микроскопические признаки (толстые, ветвящиеся гифы без пружек, наличие хламидоспор) характерны для представителей рода *Laetiporus*.

Выделенные изоляты грибов проверили на вегетативную совместимость. Для этого штаммы попарно засеивали в чашки Петри с питательной средой и инкубировали до их зарастания мицелием. При выращивании всех пар штаммов в местах контакта мицелиев наблюдалось образование валиков, что являлось признаком их вегетативной несовместимости и принадлежности к разным штаммам.

Исследовано влияние температур на рост выделенных грибов в диапазоне от 8 до 37 °С. Колонии грибов лучше всего росли в интервале от 25-28 °С. С меньшей скоростью – при 20 -22°С. Еще медленнее грибы росли при 18 и 30 °С. При 4-8 и 37 °С рост мицелия не наблюдался.

Для дальнейших исследований выбрали относительно быстрорастущий и яркоокрашенный штамм. Проверен его рост на следующих вариантах агаризованных питательных сред: Чапека, Сабуро, глюкозо-пептонной, картофельно-глюкозной, овсяной, пептонно-дрожжевом и рыбном агаре. Для оценки параметров роста использовали радиальную скорость роста (Kr) и ростовой коэффициент (PK) [4].

Лучший рост *L. sulphureus* наблюдался на картофельно-глюкозной и глюкозо-пептонной средах. Kr составила 4,6-5,2 мм/сут, PK – 22,5. С меньшей скоростью гриб рос на среде Сабуро, пептонно-дрожжевом и рыбном агаре, где Kr составила 1,2-1,8 мм/сут, PK – 12,5. Очень слабый рост наблюдался на овсяном агаре. На среде Чапека рост отсутствовал. При добавлении в среду Чапека опилок наблюдался слабый, паутинистый рост мицелия. Такой же рост наблюдался на увлажненных, простерилизованных опилках. Мицелий хорошо рос на отваренной ячменной крупе, что можно использовать для получения зернового мицелия.

Влияние источника углерода изучали на глюкозо-пептонной среде при добавлении вместо глюкозы других угле-

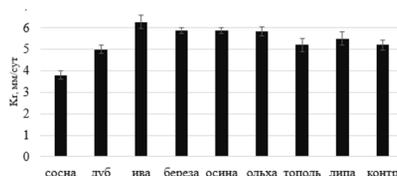
водов: лактозы, мальтозы, сахарозы, крахмала. Гриб лучше рос на средах с глюкозой, мальтозой и крахмалом.

Качественные реакции на специальных питательных средах позволили выявить наличие целлюлолитической и амилолитической активности. Протеолитической и лецитиназной активностей не наблюдалось.

Для изучения влияния вида древесины на рост мицелия гриба в глюкозо-пептонную среду, содержащую 10 г/л глюкозы, добавляли 20 г/л опилок разных древесных пород (рисунок). Глюкоза поддерживала определенную скорость роста гриба.

Как видно по рисунку, различные опилки могли как стимулировать, так и замедлять рост мицелия по сравнению с контролем.

Рис. Рост мицелия *L. sulphureus* на агаризованной питательных средах с добавлением древесных опилок



Таким образом, исследованы свойства выделенных в чистую культуру штаммов *L. sulphureus*. Оптимальная температура роста их мицелия составляла 25-28 °С. Мицелий наиболее активно рос на глюкозо-пептонной и картофельно-глюкозной средах, на которых радиальная скорость роста составляла 4,6-5,2 мм/сут, ростовой коэффициент – 22,5. Добавление в агаризованные среды опилок разных видов древесины могло как стимулировать, так и замедлять рост мицелия. Лучший рост наблюдался при добавлении опилок ивы.

Список литературы

1. Хвасько А. В., Ларинина Ю. А., Волченкова Г. А., Корзон В. Г. Особенности развития стволовых гнилей на деревьях дуба // Труды БГТУ. – Серия 1, № 1. – С. 73–79.

нию с контролем. Лучший рост наблюдался при добавлении опилок ивы. Кг по сравнению с контролем увеличилась на 14%. Опилки ольхи, осины и березы приводили к увеличению Кг на 5-6%. Мицелий на средах с опилками перечисленных деревьев рос высокий и плотный. Опилки дуба и тополя приводили к снижению скорости роста на 5-7%, а колонии получались менее плотными. Добавление опилок сосны приводило к снижению Кг почти на 30%.

Рис. Рост мицелия *L. sulphureus* на агаризованной питательных средах с добавлением древесных опилок

- Sillo F., Gianchino C., Giordano L., Mari M., Gonthier P. Local epidemiology of the wood decay agent *Laetiporus sulphureus* in carob stands in Sicily // *Forest Pathology*. – 2018. – <https://doi.org/10.1111/efp.12414>.
- Luangharna T., Karunarathna S. C., Hyde K. D., Chukeatirotea E. Optimal conditions of mycelia growth of *Laetiporus sulphureus sensu lato* // *Mycology*. – 2014. – Vol. 5, N. 4. – P. 221–227.
- Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. – Киев: Наукова думка, 1988. – 144 с.

ЭКОЛОГО-ТРОФИЧЕСКИЕ ГРУППЫ КСИЛОТРОФНЫХ ГРИБОВ ОРЕНБУРГСКОЙ ОБЛАСТИ

Сафонова Т.И., Сафонов М.А.

ФГБОУ ВО Оренбургский государственный аграрный университет
ФГБОУ ВО Российская академия народного хозяйства и государственной службы при Президенте Российской Федерации. Оренбургский филиал

Биота грибов-макромицетов длительное время оставалась одним из наименее изученных компонентов биологического разнообразия региона. Данные, накопленные начиная с 1993 года, позволили оценить современное и прогнозируемое видовое разнообразие грибов, и, в первую очередь, древоразрушающих грибов [1, 2], а также провести анализ экологической структуры региональной микобиоты.

Распространение грибов-макромицетов определяется рядом факторов, среди которых ведущее место занимают условия увлажнения, что особенно актуально для степной зоны, где выпадение осадков отличается неравномерностью. Для древоразрушающих грибов к числу ведущих факторов также относится фактор субстрата. Три основные характеристики субстрата, слагающие собственно субстратную специализацию: принадлежность субстрата к тому или иному роду древесных растений; состояние субстрата; размеры субстрата. Чаще всего под субстратной

специализацией понимают приуроченность плодовых тел гриба к субстрату определенного рода древесных растений.

Основой явления субстратной специализации грибов является комплекс причин: способ распространения, ферментовооруженность, отношение к веществам древесины и коры, исторически сложившаяся связь с деревом-хозяином [3, 4].

Специализация видов ксилотрофных грибов на заселении древесины определенных родов растений, как одна из характеристик их трофической ниши, складывается из двух составляющих: наличие и выраженность у видов специализации к обитанию на древесине определенного рода древесных растений; широта и другие особенности общего спектра древесных растений, продуцирующих субстрат для ксилотрофных грибов [4].

К видам с хорошо выраженным субстратным преферентом относятся такие виды, такие виды, как *Daedalea quercina*, *Fistulina hepatica*, *Inocutis dryophila*, *Phellinus termitum*, *Piptoporus betulinus* и др. К другой группе мож-

но отнести виды, у которых спектр заселяемых субстратов существенно варьирует по регионам. Так, например, *Gloeoporus dichrous* отмечен в Евразии на 22 родах древесных растений (в том числе и на хвойных), но наиболее типичным субстратом является древесина березы [5, 6].

Второй аспект, характеризующий трофическую нишу видов ксилотрофных базидиомицетов, также позволяет выделить несколько категорий грибов по широте и особенностям спектра заселяемых субстратов. При этом виды классифицируются исходя из выделения двух основных групп: стенотрофы, которые в пределах всего ареала или на большей его части способны заселять древесину определенного (малого) числа родов древесных растений, и эвритрофы, трофический спектр которых относительно расширен [7].

В Южном Приуралье к числу стенотрофных древоразрушающих грибов относятся лишь 10% видов [4]. Их доля в разнообразии локальных микобиот достигает 16,3% в центральной части Оренбургской области, где сосредоточены дубравы и естественные насаждения сосны. К ним, в частности, относятся: *Piptoporus betulinus*, *Irpex murashkinskyi*; *Inocutis rheades*, *Phellinus tremulae*, *Daedalea quercina*, *Fistulina hepatica*, *Fomitoporia robusta*, *Inocutis dryophila*; *Phellinus linteus*, *Dichomitus squaleus*, *Diplomitoporus flavescens*, *Gloeoporus taxicola*, *Porodaedalea pini*. Прочие виды микобиоты характеризуются той или иной степенью эвритрофности.

Еще один важный вопрос, характеризующий экологию древоразрушающих грибов – состояние субстрата, так как некоторые виды способны заселять ослабленные вегетирующие деревья, а другие обитают исключительно на валежной древесине. Соответственно, выделяют две группы видов – фитопатогены (биотрофы) и сапротрофы.

В Оренбургской области подавляющее большинство видов отмечено только на валежной древесине [8]. К числу наиболее активных фитопатогенных древоразрушающих грибов можно отнести *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref., *Porodaedalea pini* (Brot.:Fr.) Murrill, *Fomes fomentarius* (L.: Fr.) Fr., *Phellinus igniarius* Niemela, *P. tremulae* (Bond.) Bond. & Boris., *Polyporus squamosus* Huds.:Fr., *Fistulina hepatica* (Schaeff.:Fr.) Fr., *Fomitoporia robusta* (P.Karst.) Fiasson & Niemela, *Inocutis dryophila* (Berk.) Fiasson & Niemela. Биотрофные виды древоразрушающих грибов достаточно широко распространены в регионе, но пораженность ими древостоев варьирует от 0 до 37,5%.

В пределах исследованной территории, лишь незначительное число видов грибов (4,96 %) отмечено более чем в 10 районах, в частности: *Cerrena unicolor*, *Daedalea quercina*, *Exidia glandulosa*, *Fomes fomentarius*, *Oxyporus corticola*, *Phellinus igniarius*, *Pleurotus calyptratus*, *Polyporus squamosus*, *Schizophyllum commune*, *Stereum subtomentosum*, *Trametes pubescens*, *T. trogii*, *Trametes versicolor*. Несколько шире представлена группа видов со средней активностью (12,1 %), встречающихся в 6-9 районах. Распространение

многих из этих видов определяется их приуроченностью к определенным типам леса, т.е. они являются эустенотрофами или локальными стенотрофами (*Piptoporus betulinus*, *Inocutis dryophila*, *Fomitoporia robusta* и др.). Другие виды не имеют столь выраженной субстратной специализации и их распространение в регионе определяется, вероятно, сходными условиями среды в широколиственных лесах разных районов (*Bjerkandera adusta*, *Hapalopilus rutilans*, *Polyporus arcularius*, *Trametes gibbosa*, *T. ochracea*, *Trichaptum pargamentum* и др.).

Самая крупная группа видов – малоактивные, найденные в 1-4 районах. Эти виды сильно отличаются по своим экологическим характеристикам и, по сути, отражают степень специфичности видового состава грибов в каждом из изученных районов.

Таким образом, региональная микобиота включает виды с разной экологической валентностью, что во многом отражает существенные локальные отличия условий среды в лесах региона.

Список литературы

1. Сафонов М.А. Факторы выявления видового состава древоразрушающих базидиальных грибов // Вестник Оренбургского Государственного Педагогического Университета. - Электронный научный журнал (Online). ISSN 2303-9922. <http://www.vestospu.ru>, 2016. №1 (17). – С.70-75.
2. Сафонов М.А. Биоразнообразие растений и грибов: история и современные тенденции динамики // Экологическая среда и биоразнообразие Оренбуржья в XXI веке: прогноз изменений и стратегия выживания. – Оренбург: ООО ИПК «Университет», 2017. – С.70-95
3. Стороженко, В.Г. Научные основы устойчивости лесов к древоразрушающим грибам / В.Г.Стороженко, М.А. Бондарцева, В.А.Соловьев, В.И.Крутов. — М.: Наука, 1992. - 221 с.
4. Сафонов М.А. Субстратная специализация древоразрушающих грибов и ее локальное варьирование // Вестник Оренбургского Государственного Педагогического Университета. - Электронный научный журнал (Online). ISSN 2303-9922. <http://www.vestospu.ru>, 2013. №3 (7). – С.44-52
5. Nordic Macromycetes. Vol.3: heterobasidioid, aphyllorphoroid and gasteromycetoid basidiomycetes. - Copenhagen: Nordsvamp, 1997. - P.383-620.
6. Ryvarden L., Gilbertson R. L. European polypores. - Oslo: Fungiflora, 1993. Vol.1-2. - 684 p.
7. Мухин В. А. Биота ксилотрофных базидиомицетов Западно-Сибирской равнины. -Екатеринбург: УИФ Наука, 1993. - 231 с.
8. Сафонов М.А., Маленкова А.С., Шамраев А.В., Булгаков Е.А. Распространение и экология фитопатогенных древоразрушающих базидиальных грибов Южного Приуралья // Вестник ОГУ, № 9 (170). – сентябрь 2014. – С.143-146

МИКОКОМПЛЕКС СООБЩЕСТВ СОСНЫ БРУТИЙСКОЙ (*PINUS BRUTIA* TEN.) В ЮЖНОМ КРЫМУ

Саркина И.С., Рыфф Л.Э.

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, Ялта

Сосна брутийская (*Pinus brutia* Ten.) – средиземноморский вид, распространенный в Восточном Средиземноморье, Передней Азии, Крыму, на Кавказе. В северо-восточном Причерноморье распространена разновидность *P. brutia* var. *pityusa* (Steven) Silba (syn. *P. stankewiczii* (Sukaczew) Fomin). Ксерофит. Микосимбиотроф. В Южном Крыму имеет дизъюнктивный ареал, произрастает в приморском поясе на щебнистых и глинистых склонах и скалах, формируя монодоминантные сообщества либо леса и редколесья совместно с можжевельником высоким, встречается в разреженных древостоях из дуба, грабинника. Включена в Красные книги (КК) Российской Федерации (2008), Республики Крым (2015), города Севастополя (2018), Краснодарского края (2019). Естественные сообщества *P. brutia* на Крымском полуострове занимают около 122 га, лесокультура – 540 га (Плугатарь, 2015), а на Южном берегу (ЮБК) она является неотъемлемым компонентом культурфитоценозов. Публикаций по микоценозу сообществ *P. brutia* в РФ к настоящему времени нет.

Самая крупная природная популяция *P. brutia* находится в государственном природном ландшафтном заказнике регионального значения «Мыс Айя» на юго-западе Крыма. Это субсредиземноморский реликтовый лес и редколесья, занимающие скалистые и эродированные глинистые приморские склоны. Древесный ярус высотой 5–10 м представлен преимущественно сосной (сомкнутость крон 0,1–0,7) при участии *Arbutus andrachne* L., *Carpinus orientalis* Mill., *Juniperus excelsa* M. Bieb., *Quercus pubescens* Willd. В кустарниковом ярусе встречаются *Chrysojasminum fruticans* (L.) Banfi, *Cotinus coggygia* Scop., *Cotoneaster tauricus* Pojark., *Hippocrepis emerus* subsp. *emeroides* (Boiss. et Spruner) Greuter et Burdet ex Lassen, *Juniperus deltoides* R.P. Adams, *Rosa canina* L. Травяной ярус разреженный, его проективное покрытие 0–20%. Климат заказника засушливый (около 450 мм осадков в год) с преобладанием зимних осадков, что характерно для Средиземноморья. Почвы карбонатные. Такие природные условия ограничивают видовое разнообразие макромицетов. Тем не менее, наряду с эвритопными, здесь выявлены стенотопные и редкие виды.

Кроме природной популяции в заказнике «Мыс Айя» значительные площади заняты лесокультурой *P. brutia* в сочетании с *Pinus nigra* J. F. Arnold subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe. В целом в заказнике зарегистрировано 27 видов грибов: в природной популяции *P. brutia* 19 (I), в лесокультуре 18 (II): *Agaricus arvensis* Schaeff. (I), *Amanita ovoidea* (Bull.) Link (I), *A. proxima* Dumée (I), *Auriscalpium vulgare* Gray (II), *Vaeospora myosura* (Fr.) Singer (I, II), *Chroogomphus rutilus* (Schaeff.) O. K. Mill. (II), *Clathrus ruber* P. Micheli ex Pers. (I), *Clitocybe odora* (Dull.) P. Kumm. (II), *C. rivulosa* (Pers.) P. Kumm. (II), *Delicatula integrilla* (Pers.) Fayod (I, II), *Geastrum saccatum* Fr. (II), *Gymnopilus penetrans* (Fr.) Murrill (II), *Gymnopus dryophilus* (Bull.) Murrill (I, II), *Inocybe rimosa* (Bull.) P. Kumm. (II), *Lactarius sanguifluus* (Paulet) Fr. (I, II), *Lepiota clypeolaria* (Bull.) P. Kumm. (II), *Limacella subfurnacea* Contu (I), *Marasmius wynnei* Berc. et Broome (I, II), *Phellorinia herculeana* (Pers.) Kreisel (I), *Pisolithus arhizus* (Scop.) Rauschert

(I, II), *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. Fr. (I), *Rubroboletus pulchrotinctus* (Alessio) Kuan Zhao & Zhu L. Yang (I), *Russula torulosa* Bres. (I, II), *R. turci* Bres. (I), *Suillus collinitus* (Fr.) Kuntze (I, II), *Tricholoma albobrunneum* (Pers.) P. Kumm. (I, II), *T. terreum* (Schaeff.) P. Kumm. (I, II). Известно, что специализация микосимбионтов наблюдается, главным образом, на уровне родов ассоциированных с ними растений, или даже на уровне семейств. Представители рода *Pinus* L. образуют эктомикоризу со многими макромицетами, однако круг симбиотрофов сосны брутийской в силу природных условий занимаемых ею экотопов в Южном Крыму довольно ограничен. Из перечисленных видов к ним относятся *A. ovoidea*, *A. proxima*, *L. sanguifluus*, *P. arhizus*, *R. roseolus*, *R. torulosa*, *R. turci*, *S. collinitus*, *T. albobrunneum*, *T. terreum*; возможно, *R. pulchrotinctus*. Провизорным симбиотрофом для заказника является *Suillus bellini*.

В лесокультуре сосны брутийской сбор образцов осуществлялся также в окр. пос. Дальнее, Родное, Черноречье (город Севастополь), в государственных природных заповедниках (ГПЗ) «Ялтинский горно-лесной» и «Карадагский». В проинспектированных сообществах наряду с известными компонентами крымскососновых (*P. nigra* subsp. *pallasiana*) и смешанных лесов, выявлены виды, известные к настоящему времени только или преимущественно в сообществах *P. brutia*.

Suillus bellini (Inzenga) Kuntze. Вид со средиземноморским ареалом. Известен в Греции, Италии, Испании, где тяготеет к прибрежным сосновым лесам, растет под *Pinus pinea* L., *P. halepensis* Miller, *P. pinaster* Aiton. В России входит в число видов, составляющих специфику микобиоты Крымского полуострова (Bolshakov and al., 2021). Впервые зарегистрирован в Крыму 16.11.2007 в ГПЗ «Карадагский» (Саркина, Миронова, 2015). Основная популяция обнаружена позже С.А. Свириным в лесокультуре города Севастополя (окр. с. Дальнее и Черноречье), где в отдельные годы наблюдается локально-массовое плодоношение (Саркина, 2016, 2021). Эпизодически *S. bellini* встречается в парке Монтедор Никитского ботанического сада (НБС). Известны единичные находки в сообществах сосны крымской ГПЗ «Мыс Мартыан» (Плугатарь и соавт., 2018) и в окр. пос. Виноградное (Алуштинский горсовет), а также в посадках *P. halepensis* восточнее пос. Ай-Даниль на границе с ГПЗ «Ялтинский горно-лесной». Включен в КК города Севастополя (2018).

Suillus collinitus (Fr.) Kuntze. Имеет европейско-средиземноморский ареал. В РФ, кроме Крымского полуострова, известен для Калининградской области и Карачаево-Черкесской Республики (Bolshakov and al., 2021). В Крыму распространен дизъюнктивно в природных сообществах и лесокультуре *P. brutia* Севастопольского региона (Саркина, 2016), а также на ЮБК в сообществах *P. nigra* subsp. *pallasiana*, лесокультуре и парковых насаждениях *P. brutia* (Саркина, 2014; Саркина, Миронова, 2015; Плугатарь и соавт., 2018). Самая северная популяция известна в лесокультуре *P. brutia* южнее с. Машино (Бахчисарайский район).

Limacella subfurnacea Contu. Имеет преимущественно средиземноморский ареал, встречается в основном в сосновых, в том числе приморских, рощах или старых парках, на карбонатной почве. Везде редок. Входит в число видов, зарегистрированных в РФ только на Крымском полуострове (Bolshakov and al., 2021). В Крыму известны три находки: 29.10.2013 – в посадках сосны брутийской парка Монтедор НБС, 17.09.2018 – в популяции *P. brutia* заказника «Мыс Айя», 09.07.2021 – в селитебной зоне НБС в посадках дуба каменного и кипариса вечнозеленого (Саркина, 2014, 2021).

Amanita ovoidea (Bull.) Link. Имеет европейско-средиземноморский ареал. В РФ имеет ограниченное распространение: кроме Крымского полуострова, известен для Калужской области, Краснодарского и Красноярского края (Bolshakov and al., 2021). В Крыму распространен дизъюнктивно в сосновых (*P. nigra* subsp. *pallasiana*) и смешанных, включая прибрежные, лесах, в природных сообществах и лесокультуре *P. brutia* (Саркина, 2016, 2021; Плугатарь и соавт., 2018).

Amanita proxima Dumée. Имеет европейско-средиземноморский ареал, везде редок. Термофильный вид, адаптированный к засушливым условиям. Обитает в дубовых и сосновых рощах, на песчаных и известковых почвах. В РФ входит в число уникальных для Крымского полуострова видов (Bolshakov and al., 2021). В Крыму достоверно выявлен в 2018 году, до этого числился провизорным видом (Саркина, 2016). Все находки сделаны в Балаклавском районе города Севастополя, в том числе в природных сообществах и лесокультуре *P. brutia* (Саркина, 2021).

Hygrophorus meridionalis Loizides, P.-A. Moreau, Athanassiou & Athanasiades. Описан как новый для науки в 2018 году (Moreau and al., 2018). Достоверно известен на острове Кипр, Эгейских островах и в материковой Греции, где растет в декабре – феврале в лесах из *P. brutia* и *P. halepensis* на известковых почвах на высоте от 200 до 800 м н.у.м. Предположительно распространен по всему Средиземноморью. В Крыму найден 15.03.2020 в ГПЗ «Ялтинский горно-лесной» (окр. пос. Ай-Даниль, «Красный хутор», 44°31'54" с.ш., 34°15'49" в.д.), в лесокультуре (Саркина, 2021). Участок юго-восточной экспозиции, уклон 10°, расположен на высоте около 160 м н.у.м. Общее проективное покрытие 80%. Древесный ярус высотой 15–25 м составляют *P. brutia* (сомкнутость крон 0,5) и *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex Carrière (0,3). Кустарниковый ярус высотой 0,5–2,5 м составляют *Vupleurum fruticosum* L. – 5%, *Chrysojasminum fruticans* – 5%, *Cistus tauricus* C. Presl – 5%, *Cornus mas* L. – 5%, *Hedera taurica* (Hibberd) Carrière – 5%, *Juniperus deltoides* – 10%, *Quercus pubescens* (подпочт) – 3%, *Rosa canina* – 10%. Проективное покрытие травяного яруса 20%. Интересен факт, что в Восточном Средиземноморье *H. meridionalis* часто отмечают в лесах с доминированием в кустарниковом ярусе видов рода *Cistus* L. В описанном

местообитании тоже произрастает представитель данного рода – *C. tauricus*, что свидетельствует о сходстве биотопов, несмотря на искусственный характер насаждений *P. brutia* в этом районе ЮБК. В других регионах РФ *H. meridionalis* не зарегистрирован (Bolshakov and al., 2021), как и в других частях Причерноморья.

Таким образом, в микокомплекс сосны брутийской в Южном Крыму наряду с эвритопными входят стенотопные и редкие виды. Они имеют средиземноморский или европейско-средиземноморский ареал и образуют базидиомы преимущественно в ноябре – январе. Эти виды характерны для данного микокомплекса, составляют его ядро и в большей или меньшей степени специфичны. Преимущественно в сообществах *Pinus brutia* распространены *Suillus bellini* и *Limacella subfurnacea*. Из строго специфичных к настоящему времени зарегистрирован *Hygrophorus meridionalis*.

Список литературы

1. Плугатарь Ю.В. Леса Крыма. Ялта: «ИТ «Ариал»», 2015. 368 с.
2. Bolshakov S., Kalinina L., Palomozhnykh E. and al. Agaricoid and boletoid fungi of Russia: the modern country-scale checklist of scientific names based on literature data // Biological communication. Vol. 66, issue 4. 2021. P. 316-325.
3. Саркина И.С., Миронова Л.П. Роль лесокультуры в формировании микобиоты Карадагского природного заповедника (макромицеты) // 100 лет Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского: сборник научных трудов / Ред. А.В. Гаевская, А.Л. Морозова. Симферополь: Н.Орианда, 2015. С. 241-253.
4. Саркина И.С. Состояние изученности макромицетов Севастополя: современная база данных для региональной Красной книги // Научные записки природного заповедника «Мыс Мартьян». 2016. Вып. 7. С. 106-136.
5. Саркина И.С. Грибы знакомые и незнакомые. Справочник-определитель грибов Крыма. 4-е издание. Симферополь: Бизнес-Информ, 2021. 520 с.
6. Плугатарь Ю.В., Багрикова Н.А., Белич Т.В. и соавт. Природный заповедник «Мыс Мартьян». 2-ое издание. Симферополь: ИТ «Ариал», 2018. 104 с.
7. Саркина И.С. Напочвенные макромицеты парков Никитского ботанического сада // Научные записки природного заповедника «Мыс Мартьян». 2014. Вып. 5. С. 45-60.
8. Moreau P.-A., Bellanger J.-M., Lebeuf R. and al. Hidden diversity uncovered in *Hygrophorus* sect. *Aurei* (Hygrophoraceae), including the Mediterranean *H. meridionalis* and the North American *H. boyeri*, spp. nov. // Fungal Biology. 122(8). 2018. P. 817-836.

ПОСТПИРОГЕННАЯ СУКЦЕССИЯ МИКОБИОТЫ ДУБРАВЫ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЛЕСОСТЕПИ (ЛИПЕЦКАЯ ОБЛАСТЬ, ЗАПОВЕДНИК «ГАЛИЧЬЯ ГОРА»)

Сарычева Л.А.

Воронежский государственный университет, заповедник «Галичья гора»

В последнее десятилетие из-за изменения климата и температурных аномалий в центральной лесостепи Европейской части России увеличилось количество природных

пожаров, последствия которых определяют дальнейшее формирование как автотрофного, так и гетеротрофного компонентов сообществ. Пожар, произошедший 29.07.2010

года в заповеднике «Галичья гора» (на участке Морозова гора), и последовавшая за ним постпирогенная сукцессия растительных сообществ оказали значительное влияние на формирование микобиоты [1-2]. Оценка влияния пирогенного фактора на структуру сообществ макромицетов проводилась на постоянном маршруте и экологическом профиле (ЭП) в порослевой дубраве на Морозовой горе. Площадь лесного участка ЭП составляет 12500 м², на нем до пожара произрастала типичная для региона порослевая дубрава возраста около 70 лет, представленная дубом черешчатым *Quercus robur* с примесью березы бородавчатой *Betula pendula*. Сильный пожар, охвативший 80 % территории участка, привел к повреждению и гибели большей части древостоя, уничтожению подстилки и травяно-кустарникового яруса. Сравнение результатов десятилетних наблюдений на ЭП до пожара в 1994-2009 годах и после (2010-2020 гг.) позволили выявить значительные изменения видового разнообразия грибов на разных стадиях пирогенной сукцессии дубравы [2-4].

За десятилетний период наблюдений до пожара (1999-2010 гг.) на ЭП было зафиксировано 172 вида макромицетов (ежегодно отмечалось от 63 до 145 видов). После пожара

в период с 2011 по 2020 годы на данном участке ЭП выявлено 159 видов грибов (от 30 до 129 видов в сезон). Так, через год после пожара на пирогенном участке было выявлено всего 49 видов макромицетов, что примерно в 3 раза ниже среднегодовых показателей допирогенного периода наблюдений. На фоне обеднения видового состава зафиксировано появление 10 видов макромицетов, ранее не отмечавшихся на ЭП. При этом большинство из появившихся видов относились к карботрофам с различной степенью облигатности (*Anthracobia melaloma* (Alb. & Schwein.) Boud, *Climacodon pulcherrimus* (Berk. Ex M.A. Cortis) Nikol., *Daldinia childiae* J.D. Rogers et Y.M. Ju, *Mухomphalia maura* (Fr.) Hora, *Pholiota higlandensis* (Peck) A.H. Sm. et Hesler, *Peziza lobulata* (Velen.) Sverček и *Pyronema omphaloides* (Bull.) Fuckel и др.).

Анализ видового состава микосообществ показал, что в процессе постпирогенной сукцессии идет постепенное их восстановление. Минимальное сходство видовых составов макромицетов отмечено на следующий год после пожара (в 2011 году коэффициент Жаккара составил 0,27). В последующие годы видовое сходство увеличивалось (коэффициент вырос до 0,47-0,61), а максимальных значений достигло через 10 лет после пожара (в 2020 году он составил 0,78) (табл.).

Таблица. Степень сходства видового состава макромицетов до и после пожара

Годы сравнения	Общих видов	Сходство (коэффициент Жаккара)
2009/2011	33	0,27
2009/2012	66	0,56
2009/2013	85	0,59
2009/2014	75	0,56
2009/2015	65	0,47
2009/2016	76	0,55
2009/2017	87	0,59
2009/2018	81	0,61
2009/2019	82	0,58
2009/2020	91	0,78

На ранней сукцессионной стадии установлены значительные изменения и в эколого-трофической структуре микобиоты, а также отмечена смена доминантных видов в отдельных трофических группах. Так, до пожара доминирующими являлись 4 трофические группы грибов: ксилотрофы – 42 %, подстилочные сапротрофы – 21 %, симбиотрофы – 20 % и гумусовые сапротрофы 17 % видов. Существенным отличием постпирогенного состояния микобиоты является полное отсутствие симбиотрофных видов грибов и появление комплекса стенобионтных видов карботрофов. При количественных учетах напочвенных групп грибов в первые два года после пожара на пробных площадях выявлено доминирование трех видов карботрофов (*Mухomphalia maura*, *Pholiota higlandensis* и *Peziza lobulata*). Их доля составляла 74 % экземпляров от всех учтенных плодовых тел грибов, и биомасса (в сыром и сухом состоянии) достигала 47 % от общего веса всей выборки грибов. Через 3 года представители этой группы отмечались единично и в последующие годы их плодоношения полностью отсутствовали.

В составе ведущей трофической группы ксилотрофов отмечена смена доминантных видов и изменение численности

ряда константных видов. Так, на обугленных стволах дуба в массе появились *Chondrosterium purpureum* и *Gloeoporus dichrous*, ранее здесь не отмечавшихся. Зафиксировано массовое развитие *Fistulina hepatica*, встречаемость этого вида достигла 30-40 %, причем первые базидиомы *F. hepatica* появились уже через месяц после пожара. В тоже время не были выявлены виды, ежегодно развивающиеся на древесине дуба, такие как *Daedalea quercina*, *Hymenochaete rubiginosa*, *Phellinus robustus*, *Radulomyces molaris* и др. На поврежденных и обугленных стволах березы после пожара наблюдалась вспышка численности *Piptoporus betulinus* и синантропного вида *Schizophyllum commune*. Ксилопаразит *Phylloporia ribis*, постоянно присутствующий в дубраве и ежегодно поражающий бересклет бородавчатый (встречаемость колебалась от 22 до 29 %), в постпирогенных условиях выявлен только через 3 года. К 2020 году встречаемость *Ph. ribis* постепенно достигла первоначальных значений.

Следует отметить, что воздействие пожара по-разному сказалось и на редкие виды макромицетов. В последующие после пожара годы не выявлены занесенные в Красную Книгу Липецкой области такие виды, как *Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morg., *Galactinia succosa* (Berk.) Sacc.,

Geastrum striatum DC. и *Lycoperdon echinatum* Pers. Плодоношения *Gyroporus castaneus* (Bull.) Quél., образующего микоризу с дубом, были отмечены лишь через 5 лет после пожара (16.08.2016). Ряд видов зарегистрирован только на 9-10 год после пожара, это *Acetabula sulcata* (Pers.) Fckl. (23.05.2020), *Geastrum rufescens* Pers. (26.10.2020) и *Trichaster melanocephalus* Czern (17.08.2019).

На разных стадиях постпирогенного восстановления дубравы зафиксировано появление ранее не отмечавшихся в урочище Морозова гора редких в регионе видов грибов *Calvatia gigantea* (Batsch) Lloyd (26.08.2015), *Discina fastigiata* (Krombh.) Svrček et J. Moravec (24-29.04.2016), *Hericium coralloides* (Scop.) Pers. (13.09.2016), *Entoloma tjallingiorum* Noordel. (12.10.2021) и *Russuloporus cinnabarinus* (Fr.) P. Karst. (23.10.2015).

Таким образом, за 10-летний период постпирогенной сукцессии выявлена тенденция восстановления видового состава микобиоты дубравы. При этом, на фоне выпадения примерно трети видов, микосообщество пополнилось 41 видом грибов, не отмечавшихся в дубраве до пожара ранее, также в различных трофических группах макромицетов произошла смена доминантных видов.

Список литературы

1. Скользнева Л.Н., Недосекина Т.В. Влияние пирогенного фактора на растительность Морозовой горы // Флора и растительность Центрального Черноземья. Мат. междунар. научной конференции (г. Курск, 6 апреля 2013 г.). – Курск, 2013. – С. 141-145.

2. Сарычева Л.А. К микологической оценке пирогенного фактора на модельные группы грибов в условиях малых охраняемых территорий // История и развитие идей П.П. Семенова-Тян-Шанского в современной науке и практике школьного образования. Мат. Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 175-летию со дня рождения П.П. Семенова-Тян-Шанского. – Липецк, 2012. – С. 186-189.
3. Сарычева Л.А. Многолетняя динамика микобиоты в условиях заповедного режима нагорной дубравы // Экологические исследования в заповеднике «Галичья гора». – Вып. 1. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2007. – С. 53-62.
4. Сарычева Л.А. Сукцессионные изменения структуры микобиоты дубравы в условиях заповедного режима (на примере заповедника «Галичья гора») // Изучение грибов в биогеоценозах: сборник материалов V междунар. конференции (г. Пермь, 7-13 сент. 2009 г.) / науч. ред. Л.Г. Переведенцева, Т.Л. Егошина, В.Г. Стороженко; Перм. гос. ун-т. – Пермь, 2009. – С. 229-232.

КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ В ФИТО-ОЧИСТНЫХ СООРУЖЕНИЯХ НИДЕРЛАНДОВ

Сайнчук А.Д.^{1, 2}, Александрова А.В.¹, Харитонов С.Л.¹, Щеголькова Н.М.¹

¹Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова
²ФИЦ «Пуцинский научный центр биологических исследований РАН»
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрабина РАН
Отдел «Всероссийская коллекция микроорганизмов», Пуцино

Зачастую деятельность человека может оказывать негативное влияние на окружающую среду, одним из аспектов отрицательного воздействия является загрязнение вод [1]. Данная проблема проявляется не только в общем ухудшении экологической обстановки, но и в критических последствиях для здоровья, экономики и быта самого человека [2]. По этой причине необходимо искать, модернизировать и популяризировать методы нивелирования негативного влияния человека на экологическую обстановку [3]. Сегодня в очистке вод используется комбинированный подход – применяются механические, физические, химические и биологические методы [4]. Биоремедиация сравнительно молодой способ водоочистки, успевший стать распространенным за счёт своей эффективности, простоте, надёжности и относительно невысокой стоимости [5]. К новому перспективному методу биологической очистки относится фиторемедиация или фито-очистка. Специфика фито-очистных сооружений (ФОС) заключается в многокомпонентности системы, включающей растения, бактерии и грибы [6]. Каждый участник процесса не только сам удаляет загрязнители, но и повышает эффективность и стабильность целой очистной системы, каждый выступает в роли

средообразователя для других [7]. На сегодняшний день информации про роль грибов в ФОС значительно меньше, чем про роль растений и бактерий, несмотря на значительный потенциал грибов к утилизации и метаболизации широкого спектра загрязнителей [6].

Цель работы – получение максимально широких сведений о микроскопических грибах, присутствующих в фито-очистных сооружениях при различных условиях.

В работе были использованы образцы из ФОС, расположенных в зоне умеренного климата (Нидерланды). Образцы представляли собой донные осадки, поверхностную и прикорневую почву, до обработки хранились в замороженном состоянии. Образцы отбирали в шести очистных комплексах с горизонтальным подповерхностным потоком, все исследованные ФОС были засажены тростником (*Phragmites australis*). Суммарно отобрали 11 проб.

Выделение микромицетов из образцов выполнили методом высева на твердые питательные среды из серийных разведений [8]. Провели подсчет общего числа колониеобразующих единиц (КОЕ) и количества различных морфотипов колоний в каждом образце. Выделили чистые культуры, для идентификации использовали обще-

принятые определители. Наименования видов и систематическое положение дано по базам данных: Myco Bank (<http://www.mycobank.org>) и Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>).

Представленность видов оценивали по показателям относительного обилия видов. В качестве показателя разнообразия видов в работе использовали индекс разнообразия Шеннона. Для получения наглядной картины сравнения состава микромицетов из разных субстратов и местообитаний был использован метод ординации, который позволяет расположить комплексы видов из каждого образца вдоль гипотетических осей, опираясь на данные видового состава и представленности. Для этой цели был проведен анализ методом главных компонент в программе PCO3.

В образцах было выявлено 44 вида микромицетов и 4 морфологических типа неспорулирующих культур. Их количество в каждом конкретном образце варьировало от 2 до 14. Индекс разнообразия Шеннона изменялся в пределах 0,63 – 2,09, что говорит о сильной гетерогенности образцов и достаточно высоком разнообразии, сравнимым с таковыми показателями для почв. При анализе комплексов микромицетов из образцов закономерности в группировке по субстрату или по локализации в очистном сооружении выявлено не было. Однако комплексы видов группируются по сооружениям, из которых они были получены.

Самыми частыми и обильными в обследованных ФОС Нидерландов были следующие виды: *Cephalotrichum microsporum*, *Fusarium sp.*, *Penicillium ochrochloron*, *Penicillium raxilli* и *Trichoderma hamatum*.

Среди идентифицированных культур оказалось 17 родов и видов (таких как *Penicillium ochrochloron* и *Trichoderma harzianum*), потенциально участвующих в процессах разложения и удаления широкого спектра загрязнителей. Следует отметить высокое обилие видов, способных не только развиваться на растительных остатках, но и вызывать заболевания растений (*Acrostalagmus luteoalbus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium sp.*, *Gonytrichum macrocladum*, *Paraphaeosphaeria sporulosa*, *Phoma herbarum*, *Plectosphaerella cucumerina*), а также присутствие видов-токсикообразователей.

Важно отметить, что практически во всех обследованных ФОС Нидерландов выявлялся с высоким относительным обилием вид – *Penicillium ochrochloron* – гриб, для которого показана способность разрушать различные загрязнители [9]. Проведен анализ видового состава культивируемых микроскопических грибов в разных зонах

фито-очистных сооружений. В результате показано, что микроскопические грибы очень разнообразны и обильны в данных типах местообитаний и, вероятно, играют существенную роль в функционировании искусственных экосистем ФОС.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-29-25027мк

Работа была поддержана грантом МГУ имени М.В.Ломоносова для поддержки ведущих научных школ МГУ «Депозитарий живых систем Московского университета» в рамках Программы развития МГУ.

Список литературы

1. Singh M., Gupta A. Water Pollution-Sources, Effects And Control // Pointer Publishers Jaipur. 2016.
2. Хлопянов А. Г., Пенчуков В. М., Есаулко А. Н., Шутко А. П., Лысенко И. О. Экологические проблемы сельского хозяйства Ставропольского края // Вестник АПК Ставрополья. 2015. №52. С. 14–20.
3. Herrero J. L., Lozano J., Santos J. P., Suárez J. I. On-line classification of pollutants in water using wireless portable electronic noses // Chemosphere. 2016. Vol. 152. P. 107–116.
4. Fakhru'l-Razi A., Pendashteh A., Abdullah L. C., Biak D. R. A., Madaeni S. S., Abidin Z. Z. Review of technologies for oil and gas produced water treatment // Journal of hazardous materials. 2009. Vol. 170(2-3). P. 530–551.
5. Tiyasha S., Bhagat S. Phyto-Filtration: A New Approach of Waste Water Treatment // International Journal of Engineering and Innovative Technology. 2013. Vol. 3(2). P. 447–453.
6. Рыбка К. Ю., Щеголькова Н. М., Алмашин Д. С., Скрипчинский А. К. Использование фито-очистных систем для очистки от ксенобиотиков в климатических условиях России // Вода: химия и экология. 2015. №7. С. 32–42.
7. Singh R.K., Tripathi R., Ranjan A., Srivastava A.K. Fungi as potential candidates for bioremediation // Abatement of Environmental Pollutants. 2020. P. 177–191.
8. Методы почвенной микробиологии и биохимии. Под ред. Звягинцев Д.Г. М.: Изд-во МГУ. 1991: 304 с.
9. Zehra A., Dubey M.K., Meena M., Aamir M., Patel C.B., Upadhyay R.S. Role of penicillium species in bioremediation processes // New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering. 2018. P. 247–260

ЭПИФИТНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И ИХ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ХВОЙНЫХ НА ТЕРРИТОРИИ СРЕДНЕЙ СИБИРИ

Сенашова В.А.¹, Сафронова И.Е.², Шилкина Е.А.², Кочева В.А.²

¹Института леса им. В.Н.Сукачева СО РАН, Красноярск

²Филиал ФБУ «Российский центр защиты леса» «Центр защиты леса Красноярского края», Красноярск

Жизнедеятельность хвойных, как и всех растений, неразрывно связана с микроорганизмами. Каждый из органов растения представляет собой экологическую нишу, заселенную микроскопическими формами жизни: филлосферу (надземная часть растения), филлоплану (листовой аппарат), каулоферу (стебель), геммисферу (почки), антоферу (цветки), карпосферу (плоды и семена), спермосферу (семена), ризоплану (корневая система) и ризосферу (при-

корневая область) [1]. Микроорганизмы, ассоциированные с растениями, могут быть как полезны для организма-хозяина, обеспечивая его дополнительными питательными веществами, так и играть отрицательную роль, вызывая заболевания. В большинстве случаев фитопатологическими агентами являются грибы (микромицеты), реже бактерии.

Территория Средней Сибири располагает значительным запасом ценных таежных лесов, имеется развитая

сеть лесных питомников, в которых выращивается лесопосадочный материал. Микробиоты являются одним из факторов, определяющих фитосанитарное состояние древостоев, вызывая поражения корневой системы, стволов, листового и генеративного аппаратов, как в искусственных, так и естественных насаждениях.

Приведены результаты исследований патогенной грибной компоненты эпифитных сообществ хвойных на территории Средней Сибири с 2010 по 2021 годы. Материал исследования был представлен как целыми растениями, так и отдельными их частями следующих видов: *Pinus sylvestris* L., *P. sibirica* Du Tour, *P. strobus* L., *P. mugo* Turra, *Picea obovata* Ledeb., *Pic. mariana* (Mill.) Britton, Sterns & Poggenb., *Larix sibirica* Ledeb., *Juniperus communis* L., *J. sabina* L., *Abies sibirica* Ldb. Отбор образцов проводили в искусственных насаждениях и естественных древостоях Красноярского края, республик Хакасия и Тыва. Применялись как классические, так и современные методы определения патогенов.

Многолетнее изучение видового разнообразия фитопатогенных микробиот хвойных на территории Средней Сибири выявили представителей 38 родов, относящихся к различным систематическим группам: *Lophodermium* Chevall., *Lophodermella* Höhn., *Cyclaneusma* DiCosmo, Peredo & Minter, *Gremmenia* Korf., *Hypodermella* Tubeuf, *Lirula* Darker, Sarea Fr., *Herpotrichia* Fucke, *Gremmeniella* M. Morelet, *Durandiella* Seaver, *Coleosporium* Lév., *Chrysomyxa* Unger, *Melampsora* Castagne, *Melampsorella* J. Schröt., *Pucciniastrum* G.H. Otth., *Cronartium* Fr., *Typhula* (Pers.) Fr., *Mucor* Fresen., *Rhizosphaera* L. Mangin & Har., *Pestalotia* De Not., *Sclerophoma* Höhn. (телеоморфа – *Sydowia* Bres.), *Sphaeropsis* Sacc. (= *Botryosphaeria* Ces. & De Not.) *Stagonospora* (Sacc.) Sacc. (= *Hendersonia* Berk.), *Lecanosticta* Syd., *Dothistroma* Hulbary, *Fusarium* Link, *Meria* Vuill. (телеоморфа – *Rhabdocline* Syd.), *Phoma* Sacc., *Didymella* Sacc., *Alternaria* Nees, *Cladosporium* Link, *Rhizoctonia* DC., *Botrytis* P. Micheli ex Pers., *Septorioidea* Quaedvl., Verkley & Crous, *Epicoccum* Link, *Trichothecium* Link., *Verticillium* Nees., *Cylindrocarpon* Wollenw. (телеоморфа – *Neonectria* Wollenw.). Идентифицированные микробиоты вызывают преждевременную гибель ассимиляционного аппарата, нарушают деятельность корневой и проводящих систем, снижают качество семян хвойных растений.

Часть патогенов встречается как в питомниках, так и естественных насаждениях. Это *Lophodermium seditiosum* Minter, Staley & Millar, *Loph. pinastri* (Schard.) Chevall., *Cyclaneusma minus* (Butin) Di Cosmo, Peredo & Minter, *Gremmenia infestans* (P. Karst.) Crous (= *Phacidium infestans* Karst.), *Pestalotia hartigii* Tubeuf Sacc. Syll. (анаморфа аскомицета *Truncatella hartigii* (Tubeuf) Steyaert), *Sclerophoma pithyophila* (Corda) Hohn. (анаморфа аскомицета *Sydowia polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll), *Meria laricis* Vuill. (анаморфа аскомицета *Rhabdocline laricis* (Vuill.) Stone., *Coleosporium* sp. [2]

К наиболее распространенным инициаторам патологического процесса можно отнести аскомицет *Loph. seditiosum* и базидиомицет *Melampsorella caryophyllacearum* (Chroet.), вызывающие шютте сосны и ржавчинный рак пихты соответственно. Следует отметить, что *M. caryophyllacearum* в отличие от многих других патогенов вызывает системное поражение растения-хозяина, сопровождающееся раковыми опухолями на ветвях и стволах, образованием ведьминых метел, ржавчиной хвои на пораженных побегах, а также влияет и на генеративные функции пораженного дерева (снижается количество проросших пыльцевых зерен, уменьшается размер шишек, падает всхожесть семян). Ржавчинный рак пихты является одной из причин накопления сухостоя и расстройств пихтовых насаждений на

территории Красноярского края. Например, в центральной части края (Манское лесничество) очаги этого заболевания в 2021 году действовали на площади 108 га.

Необходимо отметить, что хозяйственная деятельность человека зачастую приводит к распространению фитопатогенов. Так, бесконтрольная добыча кедрового ореха способствует увеличению числа деревьев сосны кедровой сибирской, пораженных ржавчинным грибом *Cronartium pini* (Willd.) Jørst., являющегося причиной смоляного рака сосны (рака-серянки). Также указанный базидиомицет формирует обширные очаги среди насаждений сосны обыкновенной, охватывающие десятки гектаров. Например, в прошедшем году на севере Красноярского края (Невонское лесничество) территория с пораженными деревьями составила 72,9 га.

Интересной находкой является обнаружение возбудителя побегового рака пихты сумчатого гриба *Durandiella sibirica* Schabunin. На востоке Красноярского края (Манское лесничество) в 2021 г. отмечена массовая дехромация хвои на побегах текущего года в подвешенной части кроны пихты, где потеря однолетней хвои достигала 40%. Древостои с признаками поражения заболеванием занимали площадь 37,5 га. Усыхание побегов пихты, вызванное данным патогеном, является малоизученным заболеванием [3].

При искусственном лесовосстановлении (в рамках выращивания лесопосадочного материала) качество используемых семян является одним из факторов, гарантирующих получение здоровых сеянцев, следовательно, и рентабельность лесоразведения в целом. Изучение микрофлоры семян сосны обыкновенной, ели сибирской и лиственницы сибирской, собранных на территории 30 лесничеств Красноярского края, республик Хакасия и Тыва, показало сильную обсемененность семян сапротрофными грибами ($\geq 50\%$), такими как *Trichoderma* Pers., *Penicillium* Link., *Aspergillus* P. Micheli ex Haller, *Cladosporium* Link, *Monosporium* Bonord, *Clonostachys* Corda (= *Spicaria* Harting), *Trichothecium* Link., *Mucor* Fresen., *Rhizopus* Ehrenb., *Torula* Pers (= *Hormiscium* Kunz). Следует отметить, что зигомикетовые грибы (*Mucor* sp., *Rhizopus* sp) и гифомицеты *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. выделялись во всех случаях. Реже встречались *Clonostachys* sp. (2,96%), *Trichothecium* sp. (2,2%), *Cladosporium* sp. (1,48%) и *Monosporium* sp. (0,7%). Из фитопатогенных микробиот наиболее часто встречались грибы рода *Alternaria* (40%), при этом зараженность семян была относительно невысокой и лишь в отдельных случаях достигала 20–25% (семена лиственницы из центральной части республики Тыва и Юга Красноярского края соответственно). Грибы рода *Fusarium* Link. с поверхности семян выделялись значительно реже (9%). Стоит отметить, что семена лиственницы сибирской оказались наиболее подвержены заражению альтернарией (из 33 исследуемых партий семян, собранных в различных районах Красноярского края, республик Хакасия и Тыва 28 оказались зараженными данным микробиотом), сосны кедровой сибирской – фузарием (из 74 партий семян в 34 обнаружили *Fusarium* sp). При этом семена лиственницы оказались свободными от фузария.

Работа выполнена при поддержке проекта РФФИ 20-05-00540 и в рамках базового проекта «Снижение рисков возрастания воздействия болезней и вредителей на лесные экосистемы в условиях глобальных изменений окружающей среды» (№ 0287-2021-0011).

Список литературы

1. Ерина Н.В., Коптева Т.С. Микробные сообщества флоросферы некоторых растений семейства Grossulariaceae

// Научный журнал КубГАУ. – 2015. – № 110. – С. 660-671.

2. Сенашова В.А., Шилкина Е.А., Сафронова И.Е. Фитопатогенные микромицеты, ассоциированные с хвойными растениями на территории Средней Сибири / Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2021. № 236. С. 129-151.

3. Алексеев В.А., Шабунин Д.А. Побеговый рак пихты сибирской. Описание заболевания и методические рекомендации по его полевой диагностике / Санкт-Петербургский НИИ лесного хозяйства; АНО «Санкт-Петербургский лесной экологический центр». – СПб.: СПбНИИЛХ, 2000. – 29 с.

ТИПИЧНЫЕ ВИДЫ ПОЧВЕННЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ СВЕКЛОВИЧНЫХ АГРОЦЕНОЗОВ ЦЧР

А.А. Шамин, О.И. Стогниенко

Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы имени А.Л. Мазлумова, ВНИИСС, Воронежская область

Основу большинства почвенных комплексов микроорганизмов составляют микроскопические грибы (микобиота) [4]. Наиболее заметные изменения почвенной микобиоты происходят в зонах активной хозяйственной деятельности [3]. Узкая специализация растениеводства и внедрение малозатратных технологий, ведет к изменению почвенного комплекса микромицетов. Растет доля фитопатогенных видов, способствующая росту болезней корневой системы, фитотоксикозов и почвоутомлению [5, 1].

Целью исследований стало всестороннее изучение комплекса видов почвенных микроскопических грибов, населяющих окультуренные почвы чернозема выщелоченного в свекловичных агроценозах ВНИИСС им. А.Л. Мазлумова.

Анализ почвенной микобиоты за последние 10 лет говорит о существенном сокращении видового разнообразия. В период с 2010 по 2013 год выделено около 40 видов и родов различных грибов, а с 2016 по 2021 год не более 30 видов. Т.е. видовое разнообразие сократилось практически в 1,3 раза.

Грибов из группы *Zygomycetes* за весь период исследований выделено 5 видов, а *Anamorphic fungi* более 42 видов.

Установленные для некоторых фитопатогенов *Absidia sp.*, *Botrytis cinerea*, *Phoma betae* и др., показатель частоты встречаемости (далее – ЧВ) выявил случайный характер их присутствия в структуре почвенного комплекса микобиоты. Некоторые виды *Fusarium oxysporum v. acuminatum*, *Penicillium viridicatum*, *Penicillium rubrum* и др. выделялись в период исследований только единожды и их временная ЧВ была менее 10 %.

Наибольшее значение, которого достигала средняя частота встречаемости рода *Mucor sp.* 96 %. В среднем за 10 лет временная частота встречаемости Мукоровых составила 24 %. Это означает, что гриб в структуре патогенов корнеда является типичным и входит в категорию редких видов (частота встречаемости (ЧВ) = 10 – 30%). Вид как *Mucor hiemalis* был доминирующим (ЧВ >60 %) в комплексе почвенной микобиоты, но после 2013 полностью перестал встречаться.

Грибы *Mortierella sp.* также типичная и часто встречающаяся группа (средняя ЧВ за 10 лет – 46 %) в структуре почвенных микроорганизмов. В 2012 году частота встречаемости грибов рода *Mortierella* составляла 92,6 % и достигала наибольшего значения за период исследований.

Временная ЧВ *Rhizopus stolonifer* изменялась в пределах 26 – 100 % и только в 2021 году впервые не был выделен не в одной из проб. По показателю среднемноголетней ЧВ он является не только типичным видом в структуре патогенов, но и относится к группе доминирующих (ЧВ = 64 %).

Такие виды как *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum A. flavus*, *A. candidus*, также являлись типичными и частыми представителями почвенной микобиоты исследованных полей (Временная ЧВ за 10 лет до 50 %). До 2016 года выше названные виды выступали в качестве доминирующих в почвенном комплексе (ЧВ до 75 – 100 %).

Trichoderma viride, наблюдалась в структуре почвенного комплекса на протяжении всего периода исследований как доминирующий (ЧВ = 43,8 – 100 %), в 2021 году показатель снизился до 16,6 %.

Отдельные виды рода *Penicillium* являются типичными, частыми и доминирующими видами. Средняя временная частота встречаемости рода составила 100 %. Наиболее часто встречающиеся виды: *P. digitatum* (ср. многолет. ЧВ – 32 %), *P. chrysogenum* (51 %), *P. cyclopium* (43 %), *P. expansum* (46 %).

Грибы *Fusarium sp.* по средне многолетней ЧВ являлись доминирующими видами в структуре популяции почвенных микромицетов (*F. oxysporum* (74 %) и *F. solani* (62 %)).

Частота встречаемости вида *F. oxysporum* изменялась в пределах 42 – 100% (2021 год – 16,6 %). Вторым по показателю средней за десять лет частоты встречаемости был вид *F. solani* (24 – 100 %). Эти виды также являются доминирующими возбудителями болезней корневой системы сахарной свеклы ЦЧР [2].

Результаты подсчета средне многолетней общей численности почвенных видов грибов показали, что в среднем она изменяется от 170 до 450 тыс. КОЕ / 1 г абс. сух. почвы (далее – тыс. КОЕ/ 1 г).

Анализ изменений численности отдельных групп почвенных грибов показал, что первым по численности был род *Penicillium sp.* (52,6 – 198,5 тыс. КОЕ/ 1 г). Общая численность *Penicillium sp.* превышала численность любой другой группы патогенов минимум в 2,5 раза. Так в отдельные годы численность грибов рода *Trichoderma* (тоже доминирующей, распространенной типичной группы почвенных грибов) была ниже в 25 раз.

Вторым по численности в структуре почвенных видов в течение всего исследования был род *Fusarium*. Средняя численность изменялась от 26 до 73 тыс. КОЕ/ 1 г (в 2,5 раза меньше *Penicillium sp.*). Доля *Fusarium sp.* от среднемноголетней численности – 12 – 20 % (вместе с *Penicillium sp.* они составляли до 67 % от общей численности). Третьей по численности группой были *Aspergillus sp.* (4,7 – 40,8 тыс. КОЕ/ 1 г).

По итогам анализа многолетних данных по частоте встречаемости почвенных видов грибов была сформирована структура комплекса (таблица 1).

Таблица 1 – Изменения в комплексе микобиоты почвы (ВНИИСС, 2010–2021 гг.)

Типичные виды			Случайные
Доминирующие	Частые	Редкие	
Частота встречаемости, %			
>60	30-60	10-30	<10
<i>Zygomycetes</i>			
<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Mortierella sp.</i>	<i>Mucor hiemalis</i> <i>Mucor sp.</i>	<i>Absidia sp.</i>
<i>Anamorpha fungi</i>			
<i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Penicillium sp.</i> <i>Trichoderma viride</i>	<i>Alternaria alternata</i> <i>Asp. flavus</i> <i>Aspergillus candidus</i> <i>Cladosporium herbarum</i> <i>Gliocladium sp.</i> <i>Penicillium digitatum</i> <i>Penicillium cyclopium</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium expansum</i>	<i>Acremonium sp.</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Fusarium gibbosum</i> <i>F. oxysporum .v. ortoceras</i> <i>P. brevicompactum</i> <i>Penicillium purpurogenum</i> <i>Penicillium polonicum</i> <i>Penicillium cummune</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>Penicillium candidum</i>	<i>Botrytis cinerea</i> <i>Fusarium sambucinum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>F. oxysporum v.acuminatum</i> <i>Fusarium solani</i> зеленый <i>P. auranto-candidum</i> <i>Penicillium notatum</i> <i>Penicillium soliteum</i> <i>Penicillium luteum</i> <i>Penicillium liloceum</i> <i>Penicillium friqucmtans</i> <i>Penicillium roeqforti</i> <i>Penicillium viridicatum</i> <i>Penicillium glabrum</i> <i>Penicillium griseofolium</i> <i>Penicillium rubrum</i> <i>Phoma betae</i>

В результате исследований установлено, что в структуру видов почвенного комплекса микобиоты входят более 47 видов микроскопических грибов. 89 % видов являются представителями группы *Anamorphic fungi*. Типичными представителями почвенного комплекса является более 30 видов грибов. Среди них доминирующие виды (ЧВ > 60%): *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. stolonifer*, *Trichoderma viride*. Частые виды (ЧВ 30 – 60 %): *P. digitatum*, *P. chrysogenum*, *P. cyclopium*, *P. expansum*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus flavus*, *A. candidus*. Редкие виды (10 – 30 %): *Mucor sp.*, *Acremonium sp.*, *A. niger* и др. Случайные виды (< 10 %): *Absidia sp.*, *Botrytis cinerea*, *Phoma betae*, *Fusarium oxysporum v. acuminatum*, *Penicillium viridicatum*, *Penicillium rubrum* и др. За последние годы видовое разнообразие почвенных микромицетов сократилось (в 1,3 раза). Наиболее вредоносными и распространенными являются виды *F. oxysporum* и *F. solani*.

Список литературы

1. Куркина Ю.Н., Нгуен Тхи Лан Хьонг. Анализ структуры почвенного микокомплекса под бобовыми травами [текст] // Защита и карантин растений, 2014. – № 5, – С.43-44.

2. Стогниенко О.И., Селиванова Г.А. Болезни сахарной свеклы, их возбудители [текст]/ О.И. Стогниенко, Г.А. Селиванова: иллюстрированный справочник. – Воронеж: ООО «Антарес», 2008. – 112 с.
3. Сумина, О.И. Особенности формирования сообществ микромицетов в зарастающих песчаных карьерах севера Западной Сибири [текст]/ О.И. Сумина, Д.Ю.Власов, Л.Л.Долгова, Е.В.Сафронова // Вестник Санкт-Петербургского Университета. 2010. Сер. 3 Вып. 2. С. 84-90.
4. Терехова, В.А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем [текст]/ В.А. Терехова ; Ин-т проблем и экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Ин-т экологического почвоведения МГУ. – М. : Наука, 2007. – 215 с.
5. Шамин, А.А. Влияние элементов агротехники на формирование фитопатогенного комплекса возбудителей и развитие микозов корневой системы сахарной свеклы [текст]/ А.А. Шамин, О.И. Стогниенко, О.К. Боронтов // Земледелие. – 2013. – № 4. – С. 35-38.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДОВ РОДА ASCOCHYTA LIB. ПО ТАКСОНАМ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ И МЕСТООБИТАНИЯМ НА ТЕРРИТОРИИ ЦЧР

Ширнина Л.В.

ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии», Воронеж

Анализ микобиоты фитопатогенов рода *Ascochyta* Lib., выявленной в шести областях Центрально-Черноземного региона (ЦЧР - Белгородская, Воронежская, Липецкая, Курская, Тамбовская и южная часть Орловской области со сходными и природными условиями), показал, что 157 видов и 2 вариации зарегистрированы на 289 видах и 6 вариациях цветковых растений из 168 родов, относящихся к 46 семействам.

Это распределение очень неравномерно. Чаще всего поражаются представители 5-ти семейств: *Leguminosae* – 32 вида *Ascochyta* на 69 видах из 22 родов бобовых, *Compositae* – 17 (соответственно 27 и 22), *Labiatae* – 12 (21 и 14), *Solanaceae* – 10 (23 и 9), *Cruciferae* – 5 (17 и 11). Очень редко виды *Ascochyta* паразитируют на единичных видах 16 семейств: *Amaranthaceae*, *Araceae*, *Basellaceae*, *Berberidaceae*, *Boraginaceae*, *Convolvulaceae*, *Euphorbiaceae*, *Fagaceae*, *Grossulariaceae*, *Liliaceae*, *Plantaginaceae*, *Portulacaceae*, *Salicaceae*, *Sparganiaceae*, *Urticaceae*, *Valerianaceae* и *Verbenaceae*. На видах остальных семейств выявлено от двух до семи видов грибов изученного рода.

Количественное преобладание видов *Ascochyta* на представителях названных пяти семейств было отмечено также в условиях Прибалтики [1]. В Белгородской и смежных с ней областях [2] грибы данного рода паразитируют преимущественно на бобовых, сложноцветных и розоцветных.

Предпочтение патогенами тех или иных семейств и входящих в них родов не зависит от численности их видов. Так, по данным Н.С. Камышева и С.В. Голицина [3] на территории Центрального Черноземья семейства *Cruciferae* и *Leguminosae* представлены почти одинаковым числом видов (соответственно 111 и 115), однако на крестоцветных выявлено только 5 видов *Ascochyta*, а на бобовых 32. Численность семейства *Malvaceae* в 7 раз меньше, чем сем. *Scrophulariaceae*, но на представителях обоих семейств зарегистрировано одинаковое количество видов грибов – по 4.

Рассматривая распределение видов данного рода по другим таксонам отмечаем, что наиболее часто они поражают представителей родов *Lathyrus* и *Pisum* (по 4 вида *Ascochyta*), затем – *Atriplex*, *Dolichos*, *Faba*, *Orobus*, *Vicia*, *Viola* (по 3 вида). На видах 26 родов различных семейств паразитируют по 2 вида *Ascochyta*, на видах 134 родов – по 1 виду. Такое неравномерное распределение патогенных грибов можно объяснить несколькими причинами, среди которых прежде всего выделяем специализацию грибов и химизм питающих растений. По первому критерию виды *Ascochyta* можно разделить на три группы – узко-, мало- и широкоспециализированные. Узкоспециализированные (88 видов) поражают один вид растения, малоспециализированные (39 видов) – несколько видов одного рода, широкоспециализированные (30 видов) паразитируют на видах нескольких родов одного семейства.

Второй критерий уже достаточно широко применяется в хемосистематике высших растений [4]. Поскольку гриб непосредственно взаимодействует с растением, принимая в

его клетки и питаясь их содержимым, он, вероятно, избирает виды, соответствующие его пищевым запросам. Это предположение заслуживает внимания и исследований.

Нами зарегистрированы случаи, когда патогенные грибы из рода *Ascochyta* и других родов предпочитают один и тот же вид растения и совместно развиваются на его органах. Например, виды *A. betae* Prill. Et Del., *A. cucumeris* Fautr. Et Roum., *A. dahllicola* (Brun.) Pet. (на *Bidens tripartita* L.), *A. glechomatis* Bond., *A. lathyri* Trail. (на *Orobus niger* L.), *A. phaseolorum* Sacc. (на *Dolichos ornatus* Wall), *A. pisi* Lib. (на *Lathyrus magellanica* Lam.) и *A. valerianae* Smith et Ramsb. встречались совместно с видами рода *Phyllosticta* Pers.; *A. davidiana* Kab. et Bub. – с *Puccinia agropyri* Ell. et Ev. (I); *A. pinzolensis* Kab. et Bub. (на *Hyoscyamus niger* L.) – с *A. hyoscyami* Lasch. var. *rossica* Siem.; *A. violicila* McAlp. – с *Septoria violae* West и *Puccinia violae* (Schum.) DC.

Грибы рода *Ascochyta* связаны с разными жизненными формами высших растений. В основном они поражают листья травянистых растений (84% видов из общего числа выявленных), в основном многолетних (42,5%) и однолетних (42,4%), реже кустарников и деревьев (16%), однако они могут развиваться также на стеблях трав. Как правило, те или иные виды *Ascochyta* приурочены к растениям определенной жизненной формы. Но в некоторых случаях один и тот же вид паразитирует на растениях разных жизненных форм. Так, *A. amaranthi* Allesch., *A. boni-henrici* Ranaj., *A. boraginis* Brezschnev, *A. dahllicola* (Brun.) Pet., *A. lamiorum* Sacc. и др. зарегистрированы только на однолетниках; *A. caulicola* Laub., *A. hieraciicola* Moess et Smarods, *A. hyoscyami* Lasch. var. *rossica* Siem., *A. lappe* Kab. Et Bub. – строго приурочены к двулетникам; *A. artemisiae* Bond.-Mont., *A. cichorii* Died., *A. humuli* Kab. et Bub., *A. pellucida* Bub., *A. versicolor* Bub. – к многолетним травам; *A. euonymicola*, *A. philadelphia*, *A. robiniae*, *A. ulmella*, *A. wisconsinensis* встречаются только на кустарниках и древесных растениях.

Некоторые виды поражают более широкий круг растений, относящихся к разным жизненным формам: *A. lathyri* Trail., *A. monthicola* Ishiyama, *A. pinodes* Jones., *A. viciae* Lib. развиваются на одно- и многолетних травах; *A. brassicae-rapae* Bond.-Mont., паразитирующая главным образом на однолетниках, способна поражать дву- и многолетние травянистые растения; *A. cirsii* Died. и *A. echinopsis* Bond.-Mont. обнаружена на дву- и многолетних травах.

Численность, видовое обилие и распределение грибов на той или иной территории зависят прежде всего от флористического состава высших растений, однако немаловажную роль играют условия различных местообитаний и биологические особенности самих грибов. Богатая растительность Центрального Черноземья, умеренно-континентальный климат, неоднородность эдафических условий (почвенного покрова), особенности рельефа и гидрографии определяют большое разнообразие экотопов в лесах, полях, лугах, степях и на остепненных склонах, в оврагах и балках, культурных посевах, рудеральных сообществах, на меловых склонах. В этих разнообразных условиях гри-

бы рода *Ascochyta* распределяются на две группы: - виды, ограниченные в своем распространении приуроченностью к определенному фитоценозу даже в тех случаях, когда растение-хозяин встречается в других растительных сообществах и виды, экологические особенности которых позволяют им развиваться в разнообразных местообитаниях, где произрастают их питающие растения.

Большинство видов *Ascochyta*, выявленных на территории ЦЧР, являются мезофильными и развиваются в умеренно-влажных местообитаниях. Единичные виды можно отнести к гигрофильным и ксерофильным. Наши исследования показывают, что существует тесная связь видового состава, численности, характера распространения пикнидиальных грибов с флористическим составом растений и экологическими условиями их местообитаний.

БИОГЕОГРАФИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА АДВЕНТИВНОЙ ПАТОГЕННОЙ МИКОБИОТЫ ЕКАТЕРИНБУРГА

Ширяев А.Г.

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург

Город Екатеринбург расположен в центральной части Евразии, в связи с чем здесь преобладают широко распространенные (евразийские, голарктические) виды древесных растений и макроскопические грибы, ассоциированные с ними. Благодаря потеплению и росту хозяйственной деятельности в городе увеличилось разнообразие чужеродных древесных субстратов (из Европы, Восточной и Средней Азии, Северной Америки), выросла их площадь и биомасса. Это, в свою очередь, способствует проникновению в город адвентивных видов макроскопических патогенных и сапротрофных грибов, ареалы которых, относительно России, можно подразделить на три биогеографические группы: европейские – *Antrodia pallasii*, *Hypochnicium wakefieldiae*, *Lyomyces juniper*, *Metuloidea fragrans*, *Oxyporus philadelphia* и др.; восточноазиатские – *Daedalea dickinsii*, *Hymenochaete intricata*, *Radulodon licentii* и др.; южные (тропические и среднеазиатские) – *Hydnophlebia chrysorhiza*, *Lilaceophlebia ochraceofulva*, *Lopharia cinerascens*, *Peniophora versicolor*, *Tomentella olivascens* и др. Не смотря на то, что Екатеринбург расположен в таежной зоне, здесь выявлен ряд видов грибов новых для России, характеризующихся восточноазиатским (*Physalacria cryptomeriae*) и южным-тропическим распространением (*Botryobasidium rubiginosum*, *Physalacria orientalis*).

В настоящий момент, в Екатеринбурге известен 341 вид ксилотрофных афиллофоровых грибов, среди которых 252 вида выявлено на деревьях-интродуцентах, из них 92 вида (27,3% от общего числа видов) проявляют патогенные свойства (облигатные или факультативные). Статистический анализ, проведенный на основе сравнения биогеографической структуры микобиоты дендрофлоры Екатеринбурга в 2020-2022 г. с данными за 1960-е годы свидетельствует, что за прошедшие 50 лет микокомплекс трансформировался из «широко распространенного» (евразийского) в «европейский» ($p < 0,05$). Стоит отметить, что наибольшее сходство с европейской микобиотой выявлено для группы патогенных видов ($p < 0,01$), что можно объяснить большим числом появившихся патогенных видов европейского распространения (*Ganoderma pfeifferi*, *Inonotus ulmicola*, *Phellinus potaceus* и др.), тогда как среди восточноазиатских назвать

Список литературы

1. Жербеле И.Я. Грибы рода *Ascochyta* Lib. в Прибалтике. Автореф. дисс...канд. биол. наук. Рига, 1963. 22 с.
2. Брежнев И.Е. Обзор микофлоры заповедника «Лес на Ворскле» // Труды Ленингр. Об-ва естествоисп. Т. 70, № 3. С. 263-287.
3. Камышев Н.С. и Голицын С.В. Растительный покров Центрального Черноземья. Воронеж, 1964 (ВГУ, рукопись). 165 с.
4. Сорокопудова О.А., Дейнека В.И., Сорокопудов В.Н. Хемосистематика: Основные положения и особенности // Науч. ведомости, 2006. № 3 (23). вып. 4. С. 75-83.

можно лишь один (*Laetiporus cremeiporus*). Так же и численность европейских патогенных видов существенно выше восточноазиатских ($p = 0,00003$).

Тем не менее, основное число патогенных грибов на интродуцентах в Екатеринбурге – это местные широко распространенные евразийские и голарктические виды. Чужеродные виды грибов, как правило, до сих пор не многочисленны и исчезают с исчерпанием специфичного ресурса. Расширение трофического спектра адвентивных патогенных грибов в условиях Екатеринбурга, по сравнению с естественным ареалом, не выявлено. Среди патогенов, у которых существенно увеличилась численность в городе за прошедшие 50 лет, можно назвать *Inonotus ulmicola* – на видах *Ulmus*, *Phellinus potaceus* и *Sarcodontia crocea* – на видах *Malus* и *Pyrus*, а также *Sanghuangporus lonicerinus* – на *Lonicera tatarica*.

Местные виды патогенных грибов в условиях города стали более «всеядными», зачастую «заменяя» специфичные грибы свойственные конкретному субстрату в пределах естественного ареала. Например, на лианах семейства *Vitaceae* в Екатеринбурге выявлены исключительно местные виды патогенных макромицетов, но из того же рода (*Phellinus*), что и паразитирующие на виноградах в Средиземноморье, Средней и Восточной Азии. За счет разнообразного набора видов и семейств адвентивных древесных растений, а также специфических природно-климатических условий в городе у некоторых видов грибов, например, традиционно развивающихся на листовых субстратах, наблюдается переход на хвойные растения и наоборот. С другой стороны, некоторые местные виды грибов, которые в естественных условиях региона развиваются как сапротрофы, в урбоэкосистемах выявлены в качестве патогенов.

Преобладание европейских черт в структуре микобиоты города выглядит неожиданным, если следовать гипотезе свидетельствующей, что максимальное число видов грибов развивается на древесных растениях, которые преобладают по биомассе (или площади покрытия). В настоящее время в центральной части Екатеринбурга по объему биомассы преобладают североамериканские (35%), восточно-

азиатские (29%), тогда как местные древесные занимают третье место (28%). На уровне отдельных видов лидерами по объемам биомассы являются североамериканские – *Populus balsamifera* и *Acer negundo*. Восточноазиатские и североамериканские виды деревьев более морозоустойчивые по сравнению с европейскими, что определяет их адаптивность в условиях суровых уральских зим. Данные результаты, очевидно, не поддерживают обсуждаемую гипотезу. Вероятным объяснением может являться следующий факт: до границы ареалов восточноазиатских древесных растений от Екатеринбурга около 5000 км, а до Северной Америки – 7500 км, тогда как восточная граница европейских дубовых лесов расположена всего в 150 км от города. Перенос спор «европейских видов» грибов по воздуху и насекомыми, и дальнейшее их успешное проникновение в древесину выглядит более вероятным. Косвенно это подтверждается тем, что с североамериканскими древесными не «пришли» в регион североамериканские виды грибов, тогда как на се-

вероамериканских древесных развивается большое число европейских видов грибов.

В антропогенных условиях Екатеринбурга выявлен ряд видов грибов включённых в региональную и федеральную Красные книги: на лиственных деревьях (*Climacodon septentrionalis*, *Fomitiporia robusta*, *Ischnoderma resinosum*), на хвойных (*Fomitopsis officinalis*, *Hericium coralloides*, *Onnia tomentosa*, *Sparassis crispa*) и на обеих группах субстратов (*Ganoderma lucidum*, *Rhodofomes cajanderi*, *Rigidoporus crocatus*). Почти все виды из этого списка (за исключением двух) – патогены древесных растений: *C. septentrionalis*, *G. lucidum*, *F. robusta*, *F. officinalis*, *H. coralloides*, *O. tomentosa*, *R. cajanderi*, *S. crispa*.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 22-26-00228).

ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ШТАММОВ ГРИБОВ ПОГРЕБЕННЫХ И СОВРЕМЕННЫХ ПОЧВЕННЫХ ГОРИЗОНТОВ НА ПРИМЕРЕ ПОЙМЕННЫХ ПАЛЕОПОЧВ ДНЕПРОВСКОГО КОМПЛЕКСА

Сидорова Т.А.¹, Горленко М.В.², Иванова А.Е.³, Кожевин П.А.⁴

^{1,2,3,4}Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

²Институт Проблем Экологии И Эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

Состав и количество органического вещества в почве определяют структуру микробных комплексов. Первоначальным субстратом после погребения аллювиальными наносами являются «законсервированные» продукты разложения органического вещества. С увеличением срока погребения увеличивается доля соединений с более труднорастворимыми компонентами (Безуглова и др., 2008). Резервы легкодоступных субстратов сокращаются. Это влечет за собой изменение питательных предпочтений сообществ микроорганизмов, обитающих в палеопочвах, изменению стратегий развития и размножения (Благodatская и др., 2016)

В палеомикологических исследованиях открывается вопрос о происхождении выделяемых из погребенных почв грибов: принадлежат ли они к исходному сообществу, сформированному до погребения, или намыты потоком из перекрывающих слоев современной почвы. Одно из доказательств происхождения грибов *in situ* в погребенных слоях - олиготрофность сообщества почвенных микромицетов.

Провели сравнительное исследование экофизиологических свойств штаммов доминирующих грибов, выделенных из поверхностного (АУ) и погребенного 1000 лет назад ([АВ2]) почвенных горизонтов, вскрытых в комплексе в пойме Днепра (Смоленская область, Гнёздово): *P. janczewskii* K. W. Zaleski 1927, *Fusarium oxysporum sensu Smith & Swingle*, *lonostachys rosea* (Preuss) Mussat 1901. Представители встречались в погребенном горизонте и присутствовали в поверхностной почве. Анализ проводили при помощи метода мультисубстратного тестирования (МСТ) «ЭКОЛОГ» (Горленко, Кожевин, 2005) в модификации для грибов (Данилогорская и др., 2015). В планшеты с набором субстратов, различных по сложности строения и повсеместно встречающихся в почве, инокулировали спорую суспензию каж-

дого штамма с добавлением антибиотика стрептомицина и инкубировали в течение 7 суток при 15°C. Результаты учитывали на 8-е сутки по показателям оптической плотности (405 нм). В анализе использовали 23 субстрата. Для моделирования глубинных почвенных условий с ограничением доступа кислорода, половину планшетов покрывали вазелиновым маслом.

При оценке потребления субстратов штаммами на 8 сутки эксперимента был выявлен рост мицелия в некоторых «контрольных» ячейках, заполненных минеральной средой без внесения субстрата. Прорастание мицелия возможно за счет внутренних энергетических ресурсов и запасов питательных веществ самих спор (Мирчинк, 1988). В некотором количестве «контрольных» ячеек с микроаэробными условиями, отмечали начало потребления вазелинового масла. Поэтому потребление субстратов исследованными штаммами в аэробных и микроаэробных условиях оценивали по разнице оптической плотности между контрольными ячейками и ячейками с субстратами.

Для штаммов вида *P. janczewskii* предпочтительными субстратами (рис.1) являлись сахара: глюкоза, ксилоза, арабиноза, целлобиоза; аминокислоты цистеин и аланин, а также твин, N-ацетил-D-глюкозамин, глицерин, маннит и дульцит. Не потреблялись фенилаланин, лизин, мочевины. При этом глюкоза, аланин и твин активнее всего потреблялись штаммом из поверхностного горизонта в аэробных условиях. А в микроаэрофильных отмечено снижение потребления всех субстратов, за исключением глицерина и цистеина. Для штамма из погребенного горизонта отмечен более активный рост в микроаэробных условиях, особенно на глюкозе, ксилозе, арабинозе, целлобиозе, аланине, серине, твине, N-ацетил-D-глюкозамине, глицерине, манните и дульците.

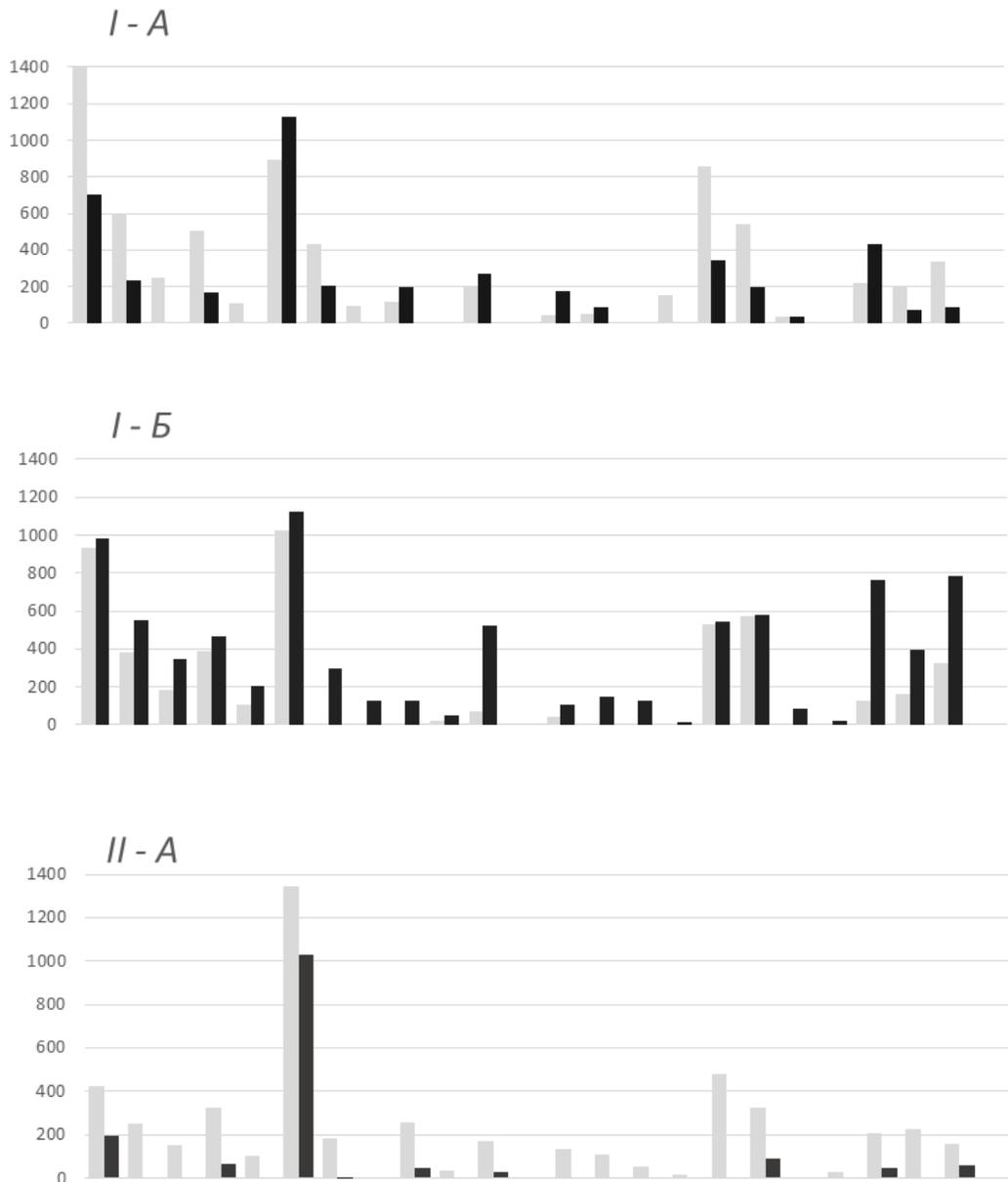
При изучении вида *F. oxysporum* (рис.1) установлена более высокая активность потребления штаммом из погребенного профиля всех субстратов по сравнению со штаммом из поверхностной почвы. Активное развитие штамма из погребенного профиля наблюдали во всех условиях. Штамм из поверхностной почвы в недостатке кислорода оказался не способен к росту на большинстве субстратов (отмечен рост только на глюкозе, цистеине и N-ацетил-D-глюкозамине). Представители вида *F. oxysporum* способны расти в анаэробных условиях (Лаврентьев, 2009). В эксперименте штамм, выделенный из погребенной почвы, оказался хорошо адаптированным к росту при пониженном содержании кислорода.

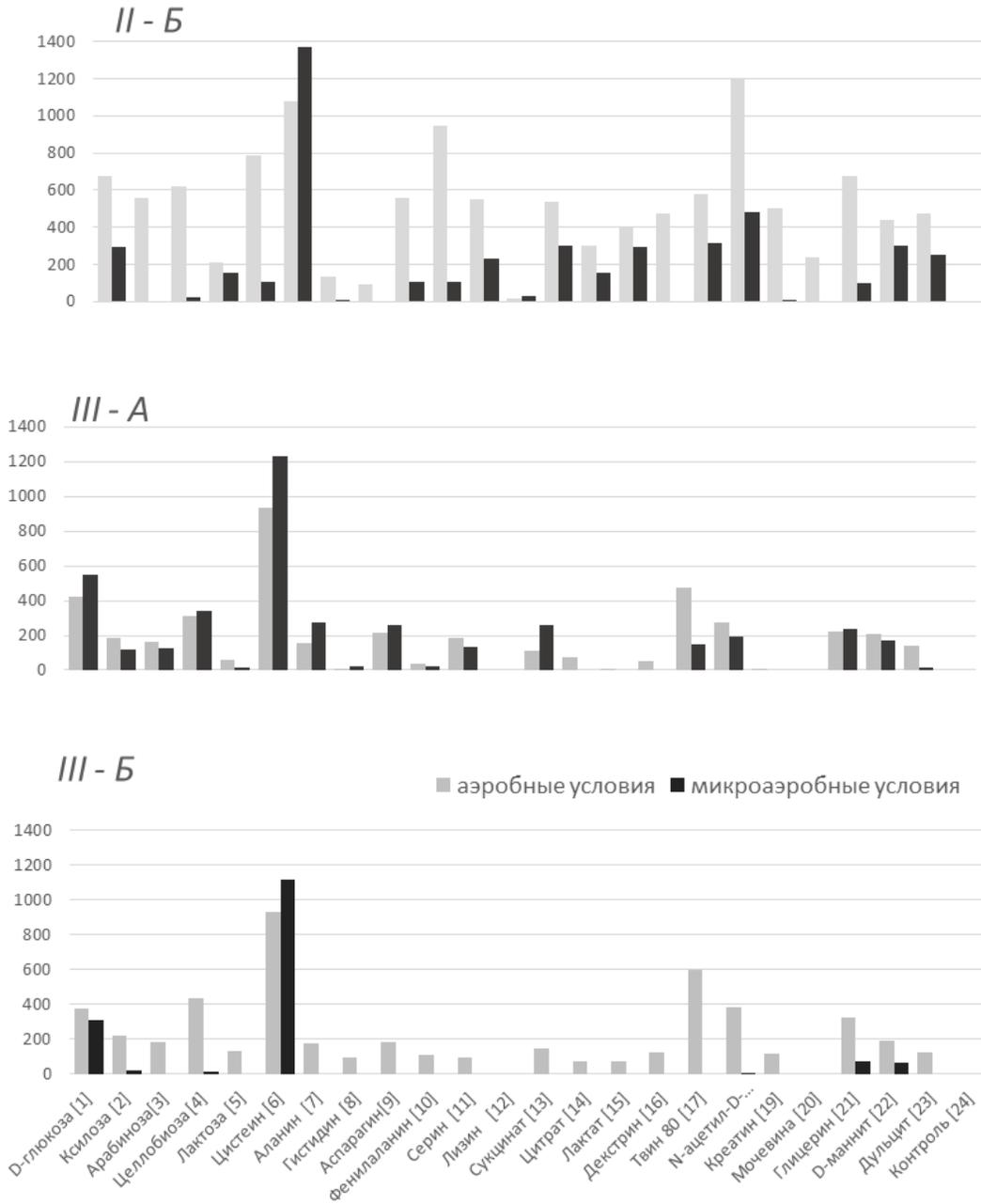
Штаммы вида *C. rosea* (рис.1) одинаково хорошо развивались в аэробных условиях на глюкозе, целлобиозе, цистеине, твине, N-ацетил-D-глюкозамине. При этом наблюдали чуть более активное потребление этих субстратов штам-

мом из погребенной почвы. Существенное отличие между штаммами выявлено в микроаэробных условиях, где штамм из погребенной почвы не развивался на большинстве субстратов, а штамм из поверхностной почвы развивался на всех тех же субстратах, что в достатке кислорода. Это может указывать на его вероятное нахождение в профиле в покоем состоянии. В целом для вида отмечено меньшее потребление сахаров и более активное развитие на полимерах и спиртах.

Полученные данные об адаптации штаммов из погребенной почвы к низкому содержанию легкодоступного органического вещества подтверждают происхождение штаммов *in situ* и их длительное существование в условиях погребения. Это дает возможность с большей вероятностью утверждать о сохранении исходного почвенного грибного пула и использовании его изучения для палеоэкологической реконструкции.

Рис.1. Интенсивность потребления субстратов штаммами, выделенными из А – современной, Б – погребенной почв. I - *P. Janczewskii*, II - *F. Oxysporum*, III - *C. rosea*.





Для сравнения дыхательной активности грибов, выделенных из поверхностного и погребенного горизонтов, были выбраны штаммы других доминирующих видов: *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx 1901, *Trichoderma hamatum* (Bonord.) Bainier 1906 и *Fusarium oxysporum sensu Smith & Swingle*. Использовали метод монореспирометрического тестирования (МРТ) (Marchenko et al., 2005) в градиенте концентраций глюкозы в собственной модификации. В каждую лунку планшета добавляли жидкую среду Чапека и глюкозу в концентрациях 0,2%, 2% и 8%. Инокулом вносили в виде чистой грибной биомассы из жидкой культуры. В контрольную ячейку глюкозу не добавляли. Ячейки планшета герметично закрыли крышкой с нанесенным агаровым гелем с бромкрезоловым пурпуровым в фосфатном буферном растворе (Марченко, 2008), инкубировали при

22°C 1 час. Интенсивность эмиссии CO₂ оценили фотометрией гелевой индикаторной тест-системы. Для проверки гипотезы был рассчитан индекс копиотрофности: ИК=(ИД max)/(ИД min), где ИК – индекс копиотрофности, ИД max - интенсивность дыхания при наименьшей концентрации глюкозы, ИД min - интенсивность дыхания при наименьшей концентрации глюкозы.

Выявлено, что все штаммы из поверхностного горизонта дышали активнее, чем штаммы из погребенного горизонта (табл. 1). Существенные различия отмечены между штаммами *T. hamatum* и *F. oxysporum*. Отличие дыхательной активности штаммов *P. aurantiogriseum* было мало выражено, заметно лишь при высокой концентрации глюкозы (8%).

Таблица 1. Индекс потребление кислорода и индекс копиотрофности.

	Концентрации глюкозы			Индекс копиотрофности
	0,2%	2%	8%	
<i>P. aurantiogriseum</i> поверх.	250	331	284	1,1
<i>P. aurantiogriseum</i> погреб.	240	320	183	0,76
<i>T. hamatum</i> поверх.	140	151	91	0,65
<i>T. hamatum</i> погреб.	73	85	33	0,45
<i>F. oxysporum</i> поверх.	332	341	266	0,8
<i>F. oxysporum</i> погреб.	109	143	58	0,5

Выводы.

1. Штаммы микроскопических грибов одного вида, выделенные из современной и погребенной почвы, могут различаться по дыхательной активности, спектру и интенсивности потребления ряда субстратов при культивировании в аэробных и микроаэробных условиях. Наибольшие отличия выявлены для штаммов видов, предпочтительно развивающихся на остатках растительных субстратов, - *S. rosea* и *F. oxysporum*, наименьшие – для штаммов типичных обитателей почв *P. janczewskii*. 2. Погребенное грибное сообщество более олиготрофно, ингибируется избытком легкодоступного субстрата (глюкозы). 3. Основным фактором, определяющим состав и структуру грибного сообщества, является тип исходной погребенной почвы, сформировавшаяся в определенных климато-растительных условиях. Грибные почвенные сообщества способны сохраняться на протяжении длительного времени. Видам свойственно приспосабливаться к условиям недостатка легкодоступных субстратов, увеличивая разнообразие используемых ресурсов.

Исследование выполнено в рамках государственного задания №121040800174-6 «Почвенные микробиомы: геномное разнообразие, функциональная активность, география и биотехнологический потенциал».

Список литературы

1. Безуглова О. С., Морозов И. В., Кутровский М. А., 2008. Погребенные почвы Недвиговского городища и роль

древнего антропогенного фактора в формировании чернозёмов // Почвоведение. № 1. С. 17–26.

2. Благодатская Е.В., Семенов М.В., Якушев А.В., 2016 Активность и биомасса почвенных микроорганизмов в изменяющихся условиях окружающей среды. – М.: Товарищество научных изданий КМК. - 243 с. С. 63
3. Горленко М.В., Кожевин П.А., 2005. Мультисубстратное тестирование природных микробных сообществ/ Учебное пособие. М.: МАКС Пресс. 88 с.
4. Данилоторская А. А., Марфенина О. Е., Тухбатова Р. И., 2015. Опыт применения мультисубстратного тестирования для определения функционального разнообразия почвенных грибов // Микология и фитопатология. Т. 49. № 6. С. 340–348.
5. Мирчинк Т. Г., 1988. Почвенная микология: Учебник. М.: Изд-во МГУ. 220 с.
6. Лаврентьев Р.Б., 2009. Факультативно-анаэробные микроскопические грибы в почвах. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М. С. 1-25.
7. Marchenko S.A., Pankratov T.A., Gorlenko M.V., Kozhevnikov P.A., 2005. Multisubstrate testing of natural microbial communities in soil // Vestnik Moskovskogo Universiteta, Pochvedenie. V. 60. No 2. P. 46-48.
8. Марченко С.А., 2008. Индикация загрязнения почвы стойкими органическими загрязнителями по функциональной реакции микробного сообщества. Автореф. ... канд. биол. наук. Москва. С. 1-23.

РЖАВЧИННЫЕ ГРИБЫ КОРМОВЫХ ТРАВ В АРМЕНИИ

Согоян Е.Ю., Нанагюлян С.Г.

Ереванский государственный университет, Кафедра ботаники и микологии, Ереван, Армения

Выявление болезней кормовых трав имеет первостепенное значение для рекомендации адекватных мер борьбы или получения устойчивых сортов с помощью программ селекции кормовых растений, а также для разработки методов повышения устойчивости к болезням [1]. Кормовые культуры подвержены многочисленным болезням листьев, стеблей и корней. Болезни листьев включают ржавчину, мучнистую росу, разные пятнистости и вызывают значительное снижение урожая, поскольку собранный корм состоит в основном из листового материала. Болезни кормовых трав могут ограничивать их эффективное использование и влиять на качество травостоя, усвояемость корма и др.

Ржавчинные (порядок *Pucciniales*) являются важными и хорошо известными паразитными грибами, поскольку они поражают урожай на протяжении многих веков. Ржавчинные грибы включают 14 семейств, 116 родов и около 7800 видов, большинство из которых относится к родам *Puccinia* и *Uromyces* [2]. Они являются облигатными паразитами с последовательностью типов спор, часто на двух чередующихся видах растений-хозяев. Некоторые виды существуют в виде множества физиологических рас, каждая из которых может паразитировать только на одной разновидности хозяина [3, 4]. Ржавчинные грибы уникальны по своей способности гибридизироваться в природе, и каждый из видов ржавчины состоит из многих физиологических рас.

Постоянно образуются новые расы ржавчинных грибов Армении ржавчинные грибы (*Puccinia coronata*, *P. graminis*, и устойчивые к известным расам кормовые травы могут *P. recondita* и др.) имеют широкую специализацию, вредят дикорастущим и культурным растениям и оказывают полностью восприимчивы к новым [5].

В течение 2010-2022г.г. был проведен подробный анализ влияние на эпидемическую ситуацию в агроценозах. Но видов ржавчинных грибов кормовых трав Армении. Для многие виды имеют узкую биологическую специализацию достижения указанной цели были проведены сборы из раз- и способны паразитировать только на одном роде расте- личных флористических райнов Армении и критический ний-хозяев (*Puccinia alternans*, *P. festucae*, *Uromyces ervi*, *U. trifolii* и др.). обзор всех выявленных ранее видов Pucciniales в коллек- ции гербария ЕГУ (ERHM).

Микологическому исследованию подвергались виды грибов, поражающих кормовые травы в Армении явля- житняка (*Agropyron*), костра (*Bromus*), ежи (*Dactylis*), пырея ются стеблевая (*Puccinia graminis*), желтая (*P. striiformis*) и (*Elytrigia*), овсяницы (*Festuca*), тимфеетки (*Phleum*), вики корончатая ржавчины (*P. coronata*). Гриб *Puccinia graminis* (*Lathyrus*), люцерны (*Medicago*), эспарцета (*Onobrychis*), *Pers.* функционально является облигатным биотрофом, это клевера (*Trifolium*) и вики (*Vicia*). Растения с признаками типичный разнохозяйственный вид ржавчины с полным болезни собирали в разных местообитаниях: естественных набором из пяти различных спорных стадий. Стеблевая и окультуренных. На представителях кормовых культур ржавчина в Армении является серьезным заболеванием зарегистрировано 20 видов ржавчинных грибов (табл.1), различных злаков, включая пшеницу и ячмень, а также один из которых – *Uromyces ervi* (Wallr.) Wastend. в Армении кормовых трав - *Agropyron*, *Bromus*, *Dactylis*, *Elytrigia* и др. регистрируется впервые.

Существуют определенные закономерности взаимоот- спублики. Два новых вида растений-хозяев для *P. graminis* ношений с группами растений-хозяев и паразитирующими – *Bromus danthoniae* Trin. и *Phleum alpinum* L. обнаружены в на них ржавчинными грибами. Некоторые выявленные в Армении впервые.

Таблица 1.

Распределение ржавчинных грибов на растениях-хозяевах

	Виды ржавчинных грибов	Роды растений-хозяев										
		Agropyron	Bromus	Dactylis	Elytrigia	Festuca	Phleum	Lathyrus	Medicago	Onobrychis	Trifolium	Vicia
1	<i>Puccinia alternans</i> Arthur		+									
2	<i>Puccinia coronata</i> Corda		+		+	+						
3	<i>Puccinia dactylidina</i> Bubák			+								
4	<i>Puccinia festucae</i> Plowr.					+						
5	<i>Puccinia graminis</i> Pers.	+	+	+	+	+	+					
6	<i>Puccinia persistens</i> Plowr.				+							
7	<i>Puccinia recondita</i> Dietel & Holw.	+	+		+							
8	<i>Puccinia striiformis</i> Westend.		+	+	+							
9	<i>Uromyces dactylidis</i> G.H. Otth			+		+						
10	<i>Uromyces ervi</i> (Wallr.) Wastend.											+
11	<i>Uromyces fallens</i> (Desm.) Barthol.										+	
12	<i>Uromyces heimerlianus</i> Magnus											+
13	<i>Uromyces magnusii</i> Kleb.								+			
14	<i>Uromyces minor</i> J.Schröt.										+	
15	<i>Uromyces pisi-sativi</i> (Pers.) Liro								+	+		
16	<i>Uromyces striatus</i> J. Schröt.								+			
17	<i>Uromyces trifolii</i> (R. Hedw.) Lév.										+	
18	<i>Uromyces trifolii-repentis</i> (Castagne) Liro										+	
19	<i>Uromyces viciae-craccaae</i> Const.											+
20	<i>Uromyces viciae-fabae</i> (Pers.) J. Schröt.								+			+

Таким образом, на представителях кормовых трав в Армении зарегистрировано 20 видов ржавчинных грибов, один из которых – *Uromyces ervi* (Wallr.) Wastend. регистрируется впервые в республике, а также обнаружено два новых вида растений-хозяев для *P. graminis* – *Bromus danthoniae* Trin. и *Phleum alpinum* L.

Список литературы

1. Braverman S.V., Lukezic F.L., Zeiders K.E., Wilson J.B. Diseases of forage grasses in humid temperate zones. PennState, 1986. 67 p.
2. Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers, J.A. ed. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. 10th Edition. CAB International, 2008. 771 p.
3. Тетеревникова-Бабаян Д.Н. Микофлора Армянской ССР; Т.4. Ржавчинные грибы. Ереван, 1977. 483 с.
4. Азбукина З.М. Низшие растения, грибы и мохообразные Дальнего Востока России. Грибы. Т.5. Ржавчинные грибы. Владивосток. 2005. 616 с.
5. Cummins G.B. The rust fungi of cereals, grasses and bamboos. New York-Berlin-Heidelberg-Springer-Verlag, 1971. 570 p.

СОСТОЯНИЕ ЛЕСНОЙ МИКОБИОТЫ В ЗОНЕ РАДИАЦИОННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОСТОЧНО-УРАЛЬСКОГО РАДИОАКТИВНОГО СЛЕДА

Ставищенко И.В.

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург

Изучение современного состояния лесной микобиоты Восточно-Уральского радиационного заповедника (ВУРЗ), созданного в 1966 г. после аварии на химкомбинате «Маяк» в 1957 г., не проводилось, что и послужило основанием для выполнения микологических исследований (Экологические последствия ..., 1993; Позолотина, Молчанова, Караваева и др., 2008). Предварительные результаты работы, посвященной изучению видового состава и функциональной структуры комплексов дереворазрушающих базидиальных грибов в зоне радиационного загрязнения Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРС) приводятся впервые.

Территория заповедника расположена на севере Челябинской области в Озерском городском округе и относится к лесостепной зоне Предуралья (Куликов, 2005).

Исследования проводились на участках перестойных березовых лесов в импактной зоне, в районах с различным содержанием радионуклидов в почве. Уровни загрязнения радионуклидами (^{90}Sr , ^{137}Cs , $^{239,240}\text{Pu}$) почв районов исследований в зависимости от расстояния от источника загрязнения ПО «Маяк» приводятся согласно литературным данным (Позолотина, Молчанова, Караваева и др., 2008). Характеристика исследованных участков леса приведена в таблице 1.

Таблица 1.

Характеристика участков леса на стационарных площадках наблюдений (СП)

Расстояние от ПО «Маяк», км / уровень загрязнения	СП	Тип леса	*Запас радионуклидов (^{90}Sr / ^{137}Cs / $^{239,240}\text{Pu}$) в почвах, кБк/м ²
2 (I – сильный)	1	Перестойный березняк кустарничково-вейниково-разнотравный с молодым подростом осины в подлеске (пройден старым низовым пожаром)	29.3 / 858.5 / 71.2
	2		
7 (II – умеренный)	3	Перестойный березняк кустарничково-разнотравный с единичными деревьями осины (пройден старым низовым пожаром; район отселенной деревни)	9.7 / 315.5 / 29.1
	4		
9 (III – умеренный)	5	Перестойный березняк кустарничково-вейниково-разнотравный с примесью осины и сосны	7.5 / 221.8 / 21.2
	6		

Примечание. *) – средние значения (Позолотина, Молчанова, Караваева и др., 2008).

Объектами исследований являлись дереворазрушающие базидиальные макромицеты (Basidiomycetes) – консорты основного лесообразующего в исследуемом районе вида – березы повислой (*Betula pendula* ROTH). Общий методологический подход, принятый в работе, основан на выявлении и анализе основных ценопараметров микоконплексов в районах, подверженных антропогенному / техногенному воздействию и в малонарушенных местообитаниях (Залесов, Кряжевских, Крупинин. и др., 2002; Ставищенко, Залесов, Луганский и др., 2002; Ставищенко, 2005, 2008, 2010, 2015; Ставищенко, Кшнясев, 2013).

Сбор плодовых тел дереворазрушающих грибов проводился в августе 2019 г. на 6 стационарных площадках (СП), включающих не менее 150–200 деревьев основной лесообразующей породы, на которых обследовалось не менее 70 единиц отпада (сухостой, валеж, пни, ветви, корни); учитывались также живые деревья с развившимися базидио-

мами фитопатогенных видов. Две стационарные площадки в районах с различными уровнями загрязнения (I – СП 1-2; II – СП 3-4; III – СП 5-6) располагались на расстоянии около 300 м друг от друга.

Для сравнения характеристик генеративной и конкурентной микогенной активности рассчитывались стандартные ошибки (N) (Карасева, Телицына, Жигальский, 2008).

Для оценки видового разнообразия микоценокомплексов использован индекс Шеннона (H) (Мэгарран, 1992).

Интенсивность деструкции отпада оценивали по шкале, предложенной П.В. Гордиенко (цит. по: Бурова, 1986).

В районе исследований было собрано и гербаризировано более 150 образцов макромицетов. Легко идентифицируемые в природе виды заносили в журнал наблюдений.

Коллекция видов грибов хранится в гербарии Института экологии растений и животных УрО РАН. При определении видов были использованы определители отечественных и зарубежных микологов.

В результате проведенных микологических исследований на участках леса СП1 – СП6 выявлено 68 видов из 54

Таблица 2.

Характеристики лесных микокомплексов ВУРЗа

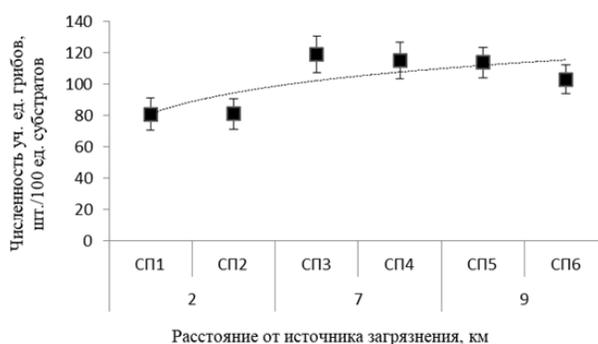
Характеристики	СП					
	1	2	3	4	5	6
Генеративная активность, уч. ед. грибов / 100 уч.ед.субстратов	81.08	81.11	119.32	115.29	113.89	103.17
Ошибки (\pm)	10.47	9.49	11.64	11.65	9.72	9.26
Конкурентная активность, уч. ед. грибов в многовидовых микоценоячейках / 100 уч.ед. субстратов	43.24	52.22	75.00	72.94	68.06	52.38
Ошибки (\pm)	7.64	7.62	9.23	9.26	8.63	9.12
Фитопатогенная активность, уч. ед. фитопатогенных грибов / 100 уч.ед.субстратов	1.35	2.22	7.95	1.18	0	6.35
Доля фитопатогенных видов, %	1.67	2.74	6.67	1.02	0	6.15
Индекс видового разнообразия, Н	1.97	2.45	2.69	2.58	2.97	2.69
Число видов	18	26	23	23	29	25

родов, 28 семейств, 9 порядков, получены количественные характеристики микоценокомплексов: параметры генеративной, конкурентной и фитопатогенной активности видов, число видов, индексы видового разнообразия (Н) (табл. 2).

Согласно представленным в таблице 3 данным, в микокомплексах района сильного загрязнения радионуклидами (СП 1,2) генеративная активность видов снижается на 25-30% в сравнении с микокомплексами районов умеренного

загрязнения (СП 3-6). На рисунке 1 показана логарифмическая зависимость величин генеративной активности от расстояния до источника загрязнения радионуклидами в импактной зоне ВУРЗа ($R_2 = 0.54$).

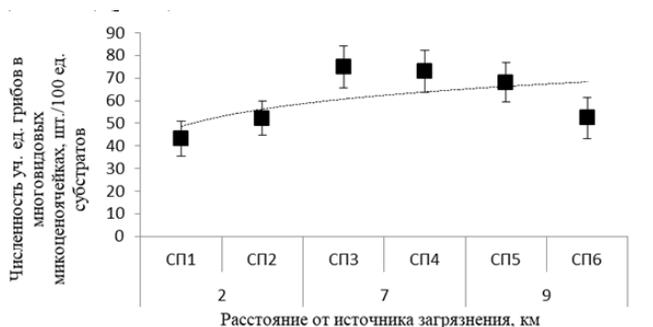
Рис. 1. Динамика ценопараметров генеративной активности видов в лесных микокомплексах в градиенте радиационного загрязнения ВУРЗа.



Конкурентная активность видов в лесных микокомплексах зоны сильного загрязнения радионуклидами (СП 1,2) снижается на 22-37% в сравнении с микокомплексами участков леса в районах с умеренным загрязнением (СП

3-6). Однако зависимость ценопараметров этой характеристики от расстояния до источника загрязнения радионуклидами довольно слабая ($R_2 = 0.36$) (рис. 2)

Рис. 2. Динамика ценопараметров конкурентной активности видов в лесных микокомплексах в градиенте радиационного загрязнения ВУРЗа.

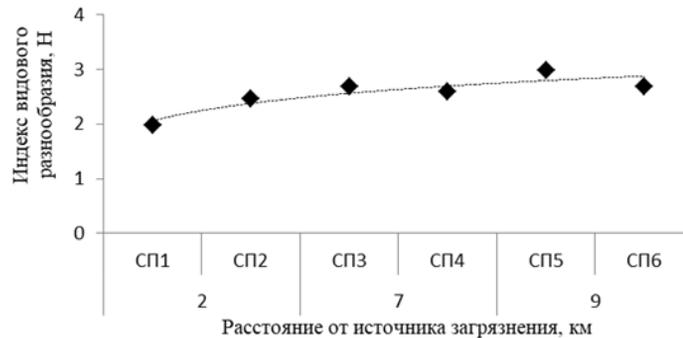


Деревья березы в исследуемом районе повреждаются следующими видами: *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilat, *Oxyporus populinus* (Schumach.) Donk и *Fomes fomentarius* (L.) Fr. Изменение активности фитопатогенных видов в микокомплексах исследованных участков леса в градиенте радиационного загрязнения не выявлено, что, возможно, связано как с историей формирования лесонасаждений, так и с устойчивостью патогенов к

воздействию радиационного загрязнения.

В микокомплексах исследованных участков леса по мере удаления от источника загрязнения увеличивается индекс видового разнообразия (рис. 3). Зависимость индекса видового разнообразия (H) от расстояния до источника загрязнения радионуклидами высока ($R^2 = 0,81$).

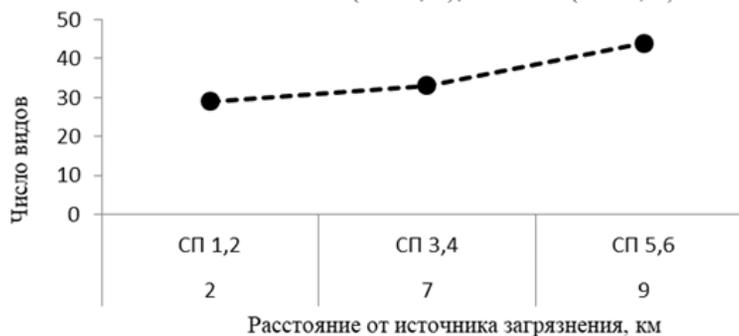
Рис. 3. Динамика индекса видового разнообразия в лесных микокомплексах в градиенте радиационного загрязнения ВУРЗа.



Общее число видов в составе микокомплексов исследованных лесных участков по мере удаления от источника загрязнения радионуклидами ПО «Маяк» возрастает и со-

ставляет соответственно 29 видов (СП 1, 2), 33 вида (СП 3; 4) и 44 вида (СП 5, 6) (рис. 4).

Рис. 4. Динамика видового богатства в лесных микокомплексах в градиенте радиационного загрязнения ВУРЗа.



Заключение.

Впервые описан видовой состав ксилотрофных базидиальных грибов на территории импактной зоны ВУРЗа: выявлено 68 видов из 54 родов, 28 семейств, 9 порядков.

Установлено, что высокие дозы радиоактивного загрязнения почв оказывают влияние на сокращение видового разнообразия лесной микобиоты.

В микокомплексах участков леса с высоким содержанием радионуклидов в почве генеративная активность уменьшается на 25-30%, а конкурентная активность – на 22-37% в сравнении с микокомплексами районов с умеренным загрязнением.

Список литературы

1. Экологические последствия радиоактивного загрязнения на Южном Урале. М.: Наука, 1993. 336 с.
2. Позолотина В.Н., Молчанова И.В., Караваева Е.Н. и др. Современное состояние наземных экосистем Восточно-Уральского радиоактивного следа: уровни загрязнения, биологические эффекты. Екатеринбург: Изд-во «Гощицкий», 2008. 204 с.

3. Куликов П.В. Конспект флоры Челябинской области (сосудистые растения). Екатеринбург, Миасс: Геотур, 2005. 537 с.
4. Залесов С.В., Кряжевских Н.А., Крупинин Н.Я. и др. Деградация и демутиация лесных экосистем в условиях нефтегазодобычи Екатеринбург: Урал. гос. лесотехн. университет, 2002. Вып. 1. С. 278–338.
5. Ставишенко И.В., Залесов С.В., Луганский Н.А., Кряжевских Н.А., Морозов А.Е. Состояние сообществ деструктурирующих грибов в районе нефтегазодобычи // Экология. – 2002. № 3. С. 175–184.
6. Ставишенко И.В. Функциональная структура комплексов ксилотрофных грибов в заповедных лесных экосистемах Северного и Среднего Урала // Грибы в природных и антропогенных экосистемах: труды Международной конференции, посвященной 100-летию начала работы профессора А.С. Бондарцева в ботаническом ин-те им. В.Л. Комарова РАН. СПб., 2005. Т. 2. С. 210–213.
7. Ставишенко И.В. Мониторинг сообществ деструктурирующих грибов природного парка «Кондинские

- озера» // Сибирский экологический журнал. 2008. №4. С. 645–654.
8. Ставищенко И.В. Состояние лесных сообществ ксилотрофных грибов под воздействием промышленных аэрополлютантов // Экология. 2010. № 5. С. 397–400.
 9. Ставищенко И.В. Оценка состояния лесных сообществ дереворазрушающих грибов // Особо охраняемые природные территории Свердловской области: мониторинг состояния природной среды / отв. ред. И.А. Кузнецова. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2015. С. 56–110.
 10. Ставищенко И.В., Кшнясев И.А. Реакция лесных сообществ ксилотрофных грибов на аэротехногенное загрязнение: мультимодельный вывод // Изв. РАН. Серия биологическая, 2013. № 4. С. 1–11.
 11. Карасева Е.В., Телицына А.Ю., Жигальский О.А. Методы изучения грызунов в полевых условиях / М.: Изд-во: ЛКИ, 2008. С. 333–335.
 12. Мэгарран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. М.: Мир, 1992. 184 с.
 13. Бурова Л.Г. Экология грибов макромицетов. М.: Наука, 1986. 222 с.

МЕЛАНИЗИРОВАННЫЕ ГРИБЫ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ПРОТЕКТОРНЫХ ФУНКЦИЙ ПОЧВ

Терехова В.А., Волкова В.Д., Рычагова А.Г., Козлова И.А., Сергеева Ю.Д., Федосеева Е.В.
*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
 МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения*

Резистентность к неблагоприятным воздействиям почвы придает углерод органического вещества (Сорг), составляющий основу гуминовых веществ. Протекторные функции гуминовых веществ обусловлены их высокой сорбционной способностью по отношению к токсикантам. На протяжении нескольких десятилетий дискутируется значимость вклада меланинсодержащих микромицетов в гумусообразование. В наших исследованиях мы проводим сравнение динамики структуры микромицетных сообществ в почвах, различающихся по гумусному статусу, но с одинаковой техногенной нагрузкой. В условиях моделирования загрязнения дерново-подзолистых почв из двух локаций в Московской области проведен анализ динамики меланизированных форм методом культивирования на среде Чапека и методом метагеномного анализа. Внесение комплекса солей тяжелых металлов (Cu, Zn и Pb в дозе 660, 1100 и 650 мг/кг почвы) в большей степени оказывает влия-

ние на структуру сообщества в почве с низким содержанием Сорг: в слабогумусированной почве при Сорг=1,3% доля меланизированных форм достоверно возростала на 38%, в то время как в сильногумусированной при Сорг=3.9 лишь на 18%. В ходе детальной обработки данных выявлена прямо пропорциональная зависимость роста долей меланинсодержащих грибов и концентраций свинца и цинка. Полученные экспериментальные данные дают основание предполагать, что преобладающий рост меланизированного мицелия в слабогумусированной почве в условиях техногенной нагрузки представляет собой элемент защитного механизма почвенных экосистем, нацеленного на повышение образования гумуса, прекурсором которого могут выступать грибные меланины.

Работа выполняется при финансовой поддержке РФФ, грант 22-24-00666.

СОРБЦИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ МИЦЕЛИЕМ ГИАЛИНОВЫХ И МЕЛАНИЗИРОВАННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ

Волкова В.Д., Сергеева Ю.Д., Терехова В.А.
*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
 МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения*

Грибные меланины представляют собой темно-коричневые или черные пигменты, расположенные в клеточных стенках. Химическая структура меланина представлена множеством кислородсодержащих групп, включая карбоксильные, фенольные и спиртовые гидроксильные, карбонильные и метоксигруппы, обладающие способностью связываться с широким спектром веществ. В литературе исследования подтвердили, что меланин грибов действует как хелатор металлов, усиливая взаимодействие биомассы с металлом и, следовательно, его биосорбционную способность. В наших исследованиях дана оценка детоксицирующей и биосорбционной способности пигментированной мертвой грибной биомассы *Aspergillus niger*, а пигментного *Fusarium oxysporum* и чистого препарата меланина в широком спектре концентраций катионов меди (0.1- 0.005 мМ). Связывание меди оценивали по спектрам поглощения. Выявлено, что максимальный эффект по детоксикации рас-

творы меди, измеренной методом фитотестирования, давал препарат меланина. Биосорбция меди и детоксицирующий эффект пигментированной грибной биомассы при 0.005 мМ были заметно выше у *A.niger*, чем у неокрашенного *F.oxysporum*. Таким образом, пигментированную биомассу мицелиальных грибов можно рассматривать как перспективный биосорбент для удаления химических элементов, например, из сточных вод благодаря наличию меланина, значительно повышающего способность комплексообразования металлов, повышая эффективность процесса биосорбции. При этом необходимы иметь более детальные наработки относительно возраста, интенсивности пигментообразования, пропорции мицелия и концентрационных особенностей сорбируемых элементов

Работа выполняется при финансовой поддержке РФФ, грант 22-24-00666.

ЭКОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПЛАЗМОДИАЛЬНЫХ МИКСОМИЦЕТОВ (МУХОМУЦЕТЕС) НОВОУСМАНСКОГО РАЙОНА ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ**Токаренко Д.С., Мелькумов Г.М.**

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

В конце 20-го века значительно возрос интерес к проблеме сохранения биологического разнообразия живых организмов. Национальные и глобальные задачи сохранения биоразнообразия не могут быть решены без фундаментальных исследований в этой области. Между тем, степень изученности различных групп организмов значительно варьирует, как на региональном, так и на глобальном уровнях (Гмошинский, 2013).

Микроскопические размеры и особенности биологии микроорганизмов, включая микромицеты и протисты, значительно затрудняют оценку их разнообразия. Наиболее успешны такие исследования в отношении групп, виды которых могут быть относительно легко обнаружены в природе или выделены в лаборатории.

Одной из них являются плазмодияльные миксомицеты (Мухомуцетес = Eumycetozoa), или слизевики – наземные грибообразные спорообразующие амебоидные протисты, насчитывающие около 1200 видов, включенных в 5-7 порядков. Предполагают, что они влияют на численность бактерий в различных экосистемах и могут выступать биоиндикаторами загрязнения окружающей среды (Мелькумов, 2020).

Сбор материала проводился в летне-весенний период 2019-2022 гг. в ходе маршрутного обследования разнотипных сообществ Новоусманского района Воронежской области. Приоритетной задачей при составлении маршрутов был максимальный охват лесопокрытой территории. В ходе обследования осматривались живые, сухостойные и валежные стволы деревьев, ветви и пни хвойных и лиственных пород в различных лесных формациях. Для определения миксомицетов использовался стереоскопический микроскоп МБС-10, микроскопирование органов спороношения производилось при помощи микроскопа Биомед 1. Идентификация видов осуществлялась с помощью отечественных и современных определителей (Новожилов, 1993; Neubert, 1993; Neubert, 1995; Neubert, 2000; Гмошинский, Дунаев, Киреева, 2021) и монографий (Stephenson, Stempen, 1994; Ing, 1999 и др.).

Выявленные виды плазмодияльных миксомицетов хранятся в микологическом гербарии (VOR) кафедры ботаники и микологии Воронежского государственного университета. Актуальность всех видовых названий грибообразных протистов выверена с помощью номенклатурных баз данных MycoBank (<http://www.mycobank.org>) и An online nomenclatural information system of Eumycetozoa (eumycetozoa.com) (по состоянию на 10.08.2022).

В результате собственных сборов и последней ревизии микологической коллекции Гербария им. Б.М. Козо-Полянского ВГУ (VOR) было установлено 59 видов плазмодияльных миксомицетов, произрастающих на территории Новоусманского района Воронежской области и относящихся к классу Мухомуцетес, 5 порядкам, 9 семействам и 25 родам.

Большинство видов относятся к порядку Physarales (26 видов; 44,1 % от общего числа). Данный порядок представлен 2 семействами (22,2 % от общего числа семейств) и 8

родами (32,0 % от общего числа родов), Trichiales (13; 22,0 %) с 2 семействами (22,2 %) и 5 родами (20,0 %), Stemonitales (10; 16,9 %), включающий 1 семейство (11,1 %) и 6 родов (24,0 %), Liceales (9; 15,3 %), представленный 3 семействами (33,3 %) и 5 родами (20,0 %), Echinosteliales (1; 1,7 %), включающий 1 семейство (11,1 %) и 1 род (4,0 %).

В результате анализа морфологии выявленных видов плазмодияльных миксомицетов были составлены диагностические таблицы признаков слизевиков Новоусманского района области, включающие такие критерии как окраска плазмодия, тип и окраска спорофора, окраска ножки спорофора, форма, окраска и размеры споротеки, строение перидия, орнаментация капиллиция (псевдокапиллиция), окраска, размеры и характер поверхности спор.

В ходе исследования установлено, что 55 видов миксомицетов обладают вегетативным телом, представленным плазмодием, 2 вида характеризуются протоплазмодием, у 2 видов плазмодий не установлен.

У большинства видов слизевиков (50 видов; 84,7 %) плазмодий обладает белой окраской, у 31 (52,5 %) – желтой, 15 (25,4 %) – серой, 7 (11,9 %) – коричневой, 5 (8,5 %) – оранжевой и розовой, 4 (6,8 %) – фиолетовой, 3 (5,1 %) – красноватой и черной, 2 (3,4 %) – бежевой и кремевой. Реже остальных (1; 1,7 %) встречается голубая и зеленая окраска. Плазмодияльные миксомицеты образуют 4 типа плодовых тел – спорангий, эталий, плазмодиокарп и псевдоэталлий. Чаще других встречаются спорангии (50; 84,7 %), плазмодиокарпы (14; 23,7 %), реже – эталии (7; 11,9 %) и псевдоэталлий (2; 3,4 %).

Другой важной диагностической характеристикой грибообразных протистов выступает форма споротеки. Большинство таксонов характеризуется шаровидной (28 видов), цилиндрической (14), подушковидной (13), овальной (7) и сферической (5) формой. В меньшей степени встречаются грушевидная (4), яйцевидная, округлая (3), коническая, линзовидная, полусферическая (2), подковообразная, кольцевая, эллипсоидальная, продолговатая, почковидная и дисковидная (1) структуры.

Идентификацию видов слизевиков обычно проводят на основе микроскопии органов размножения. Споры выявленных таксонов плазмодияльных миксомицетов Новоусманского района обладают 15-ю вариантами окраски, среди которых чаще всего встречается коричневая (35), фиолетовая (27) и черная (21). Поверхность большинства спор орнаментирована бородавками (33), шипиками (14) и сеточкой (8). Гладкая структура спор встречается у 9 представителей.

В результате анализа трофической специализации выявленных видов миксомицетов, установлено, что в качестве субстрата они могут использовать гниющие растительные остатки, кору и древесину живых и мертвых деревьев, плодовые тела грибов, лиственный опад, мхи, лишайники, эпифитных водорослей, солому и помет растительоядных животных. Чаще всего в качестве субстрата используются гниющая древесина (41 вид миксомицетов), кора живых

деревьев (13), лиственный опад и гниющие растительные остатки (12), мертвая кора (10), стебли живых растений и мхи (4). В меньшей степени выявленные миксомицеты адаптируются к росту на плодовых телах грибов (2), навозе и помете растительноядных животных (1). При анализе типов субстратных комплексов установлено, что обнаруженные виды слизевиков могут классифицироваться на три группы – ксиобионтные, эпифитные и подстилочные.

Подавляющее большинство видов миксомицетов относится к ксиобионтному (50 видов; 84,7 % от общего числа видов) и подстилочному (28; 47,5 %) субстратному комплексу. Наименьшее число видов принадлежит эпифитному субстратному комплексу, что составляет 18 таксонов и 30,5 % соответственно.

Исследование видового состава плазмодияльных миксомицетов Новоусманского района Воронежской области будут продолжены.

Список литературы

1. Гмошинский В.И. Миксомицеты Москвы и Московской области: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.12 – Микология / В.И. Гмошинский. – Москва, 2013. – 268 с.
2. Мелькумов Г.М. Скрытое разнообразие плазмодияльных миксомицетов (Мухомycetes) Воронежской области / Г.М. Мелькумов // Проблемы ботаники: история и современность: материалы Международной научной конференции, посвященной 130-летию со дня рождения проф. Б.М. Козо-Полянского, 80-летию со дня рождения проф. К.Ф. Хмелева, 9-го научного совещания «Флора Средней России» (г. Воронеж, 3-7 февраля 2020 г.). – Воронеж, 2020. – С. 245-248.
3. Новожилов Ю.К. Определитель грибов России. Отдел Слизевики. Вып. 1. Класс Миксомицеты / Ю.К. Новожилов. – СПб: Наука, 1993. – 288 с.
4. Neubert H. Die Myxomyceten. Deutschlands und des angrenzenden Alpenraumes unter besonderer Berücksichtigung -sterreichs. Band 1. Ceratiomyxales, Echinosteliales, Liceales, Trichiales / H. Neubert, W. Nowothy, K. Baumann. – Gomaringen: Baumann, 1993. – 340 p.
5. Neubert H. Die Myxomyceten. Deutschlands und des angrenzenden Alpenraumes unter besonderer Berücksichtigung -sterreichs. Band 2. Physarales / H. Neubert, W. Nowothy, K. Baumann, M. von H. Marx. – Gomaringen: Baumann, 1995. – 368 p.
6. Neubert H. Die Myxomyceten. Deutschlands und des angrenzenden Alpenraumes unter besonderer Berücksichtigung -sterreichs. Band 3. Stemonitales / H. Neubert, W. Nowothy, K. Baumann, M. von H. Marx. – Gomaringen: Baumann, 2000. – 389 p.
7. Гмошинский В.И. Определитель миксомицетов Московской области: учебно-методическое пособие / В.И. Гмошинский, Е.А. Дунаев, Н.И. Киреева. – М.: Изд-во «Культурно-просветительский центр «Архэ», 2021. – 388 с.
8. Stephenson S.L. Myxomycetes. A Handbook of slime molds / S.L. Stephenson, H. Stempen. – Portland, Oregon: Timber Press, 1994. – 183 p.
9. Ing B. The Myxomycetes of Britain and Ireland. An identification Handbook / B. Ing. – Great Britain, 1999. – 374 p.
10. Rojas K. Myxomycetes. Biology, Systematics, Biogeography and Ecology. Second Edition / K. Rojas, S.L. Stephenson. – India: Academic Press, 2021. – 602 p.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ И КАЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СОДЕРЖАНИЯ ГРИБОВ В СОСТАВЕ ТВЕРДЫХ АТМОСФЕРНЫХ ВЫПАДЕНИЙ НА ТЕРРИТОРИИ Г. МОСКВА И Г. КРАСНОДАР

Валяев Д.А.¹, Иванова А.Е.^{1,2}, Прокофьева Т.В.¹, Гончаров Н.В.¹, Умарова А.Б.¹

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет почвоведения

² Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

Важной чертой городской среды обитания является наличие в циркулирующих потоках воздуха значительных количеств взвешенных пылевых частиц, со временем осаждающихся и формирующих твердые атмосферные выпадения. Наряду с различными компонентами абиогенного и антропогенного происхождения, неотъемлемой частью городской пыли выступают различные микроорганизмы, в том числе и грибы. Изучение микобиоты твердых атмосферных выпадений позволяет сделать множество выводов как в области прикладной, так и фундаментальной науки: появляется возможность дать санитарную оценку городской среде по обилию грибных спор малых размеров групп и наличию видов условно-патогенной группы; на основе данных по видовому разнообразию имеется возможность произвести сравнение биоразнообразия пыли и фоновых городских почв, дав, таким образом, материал для осмысления генезиса пыли воздуха: является ли она продуктом дезинтеграции поверхностных слоев местных почв или же она сформирована из иных источников. Помимо этого, некоторые штаммы микромикетов, выделенных из

пыли, могут иметь морфологические признаки, отличные от характерных черт, обычно присущих виду, к которому они принадлежат – таким образом, при исследовании микробиома пыли пополняется коллекционный материал.

В ходе работы посредством классических культуральных методов (грибной агар Чапека) и метода прямого люминесцентного микроскопирования (окраска грибных спор красителем калькофлуором белым) были даны количественные и качественные характеристики содержания грибных диаспор в образцах пыли, оседающей на поверхности почвы, и самой почвы, отобранных в различных районах Москвы и Краснодара. Образцы пыли отбирали в двух функциональных зонах: на придорожной территории и в парковой рекреационной зоне. Пробы отбирали с поверхности почвы методом смётов, а также с применением компрессора (Tefal X-PERT 3.60 Versatile Handstick TY6975WO).

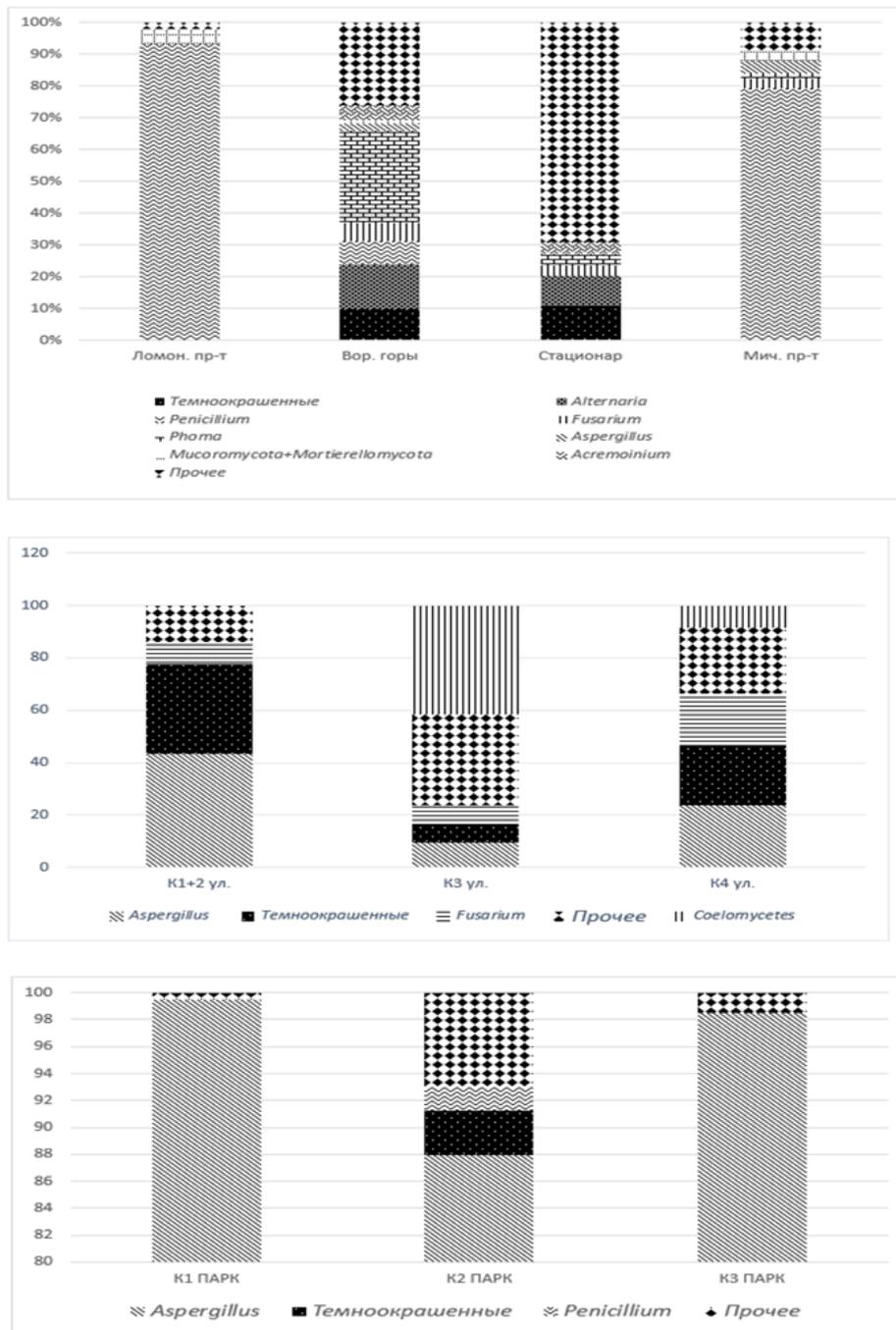
Проведенная работа показала, что на соотношение доминирующих морфотипов, а также распределение грибных спор по размерным группам, имеют влияние как располо-

жение точки отбора проб в городской черте, так и локус, из которого был произведен забор: пыль или почва. Так, для Москвы, продемонстрировано, что в районах с наибольшей техногенной нагрузкой, наблюдается закономерное снижение общего разнообразия и выявление в доминантах условно-патогенных видов (*Aspergillus* spp.). В зонах рекреации, напротив, демонстрируется видовое богатство и обилие грибов, ассоциированных с живым и мертвым растительным материалом (*Phoma* spp., *Alternaria* spp., *Trichoderma* spp.). Корреляция между грибным населением пыли и почвы проводится слабо.

Сравнивая полученные для Краснодара данные с результатами по Москве, обнаруживаются как схожие закономерности, так и заметные отличия. В дорожной пыли наблюдается увеличение экологической группы темноокрашенных грибов, что связано с повышенным воздействием

стрессовых факторов в антропогенно-преобразованной среде обитания. Однако в целом видовое разнообразие оказалось значительно выше именно на придорожной территории; выявилось доминирование представителей рода *Aspergillus* в составе напочвенной пыли на территории городского парка. Поскольку грибы рода *Aspergillus* являются типичными обитателями почвы и сопряженных с ней сред в степной зоне, можно сделать вывод о преобладании в зоне рекреации нативных видов грибов, в отличие от автодороги, на которой наблюдается активный антропогенный привнос чуждой для изучаемой природной зоны микобиоты. В сравнении с московскими образцами видовое разнообразие обеих функциональных зон города оказалось ниже, и при этом корреляция морфотипического состава функциональных зон Краснодара оказалась выше (рис.1).

Рис.1. Разнообразие грибных морфотипов в пыли: (А) придорожной и рекреационной зоны г. Москвы, (Б) придорожной и (В) рекреационной зоны г. Краснодара



В ходе исследования установлено, что в осевшей городской пыли содержатся значительные запасы грибной биомассы – 2-5% от массы сухой пыли. Представлена грибная биомасса почти исключительно спорами, из которых 50-70% массы составляют споры мелких размеров. В почве обнаруживается примерно в 7 раз меньше биомассы грибных спор, а распределение массы спор по размерным фракциям более равномерное. Сравнение численности спор в городской пыли для двух городов показало явные различия. Содержание грибных спор в пыли парка г. Краснодара в 2 раза выше, чем в изученной зоне рекреации г. Москвы. Для территорий с высокой техногенной нагрузкой соблюдается та же закономерность: грибных спор в составе придорожной пыли в Краснодаре в 3-5 раз больше, чем в аналогичном субстрате в Москве.

Полученные оригинальные данные указывают на существенный вклад иных, не только почвенных источников происхождения городских биоаэрозолей.

Исследование выполнено в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды. Сбор полевого материала и лабораторная обработка части образцов на территории г. Москвы выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-05-50093. Анализ видового разнообразия микобиоты пыли на территории г. Краснодар и частично г. Москвы, интерпретация данных выполнены по государственному заданию № 121040800174-6 «Почвенные микробиомы: геномное разнообразие, функциональная активность, география и биотехнологический потенциал»

МИКОТРОФНОСТЬ РАСТЕНИЙ СЕМ. ERICACEAE БОЛОТНЫХ СОСНЯКОВ

Жебрак И.С., Созинов О.В., Данилик В.С.

Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь

Виды семейства Ericaceae (Вересковые) произрастают в основном на бедных элементами минерального питания почвах, часто доминируют в болотных ценозах на торфяных почвах. На верховых болотах вересковые виды выступают в качестве эдификаторов – «инженеров сообщества» [1]. Жизнь на бедных почвах способствовала возникновению у вересковых микоризы. Особенность строения вересковых растений – наличие уникальных специализированных дистальных корней, ризодермальные клетки которых заселяют грибы, тем самым формируя эрикоидную микоризу [2]. Цель работы – выявить зависимость микотрофности багульника болотного (*Ledum palustre* L.), голубики обыкновенной (*Vaccinium uliginosum* L.) и клюквы болотной (*Oxycoccus palustris* Pers.) от мест их произрастания.

Место проведения исследования – болотные сосняки вокруг Чёртова озера на территории Республиканского ландшафтного заказника «Озёры»: E523 N349 (Гродненский район, Гродненской области, Беларусь). В пяти фитоценозах вокруг Чёртова озера (болотный массив верхового типа), заложены пробные площадки (ПП: 400 м²) в которых на пяти учетных площадках (1 м²) изымали корни пяти растений трёх видов растений: *Ledum palustre*, *Oxycoccus palustris*, *Vaccinium uliginosum* (n=125 каждого вида). Корни фиксировали, проводили их мацерацию, окрашивали раствором анилинового синего и готовили препараты. На одно предметное стекло помещали 15 фрагментов корней (1 см). Методом И.А. Селиванова определяли микотрофность болотных растений (частоту встречаемости эрикоидных грибов (E%); интенсивность микоризации (С, %) в корнях) [3]. Для установления достоверной статистической разницы между средними значениями двух выборок был использован t-критерий Стьюдента.

В пяти модельных фитоценозах ранее проводилось геоботанические описания (ГО) [4] и определяли гидрохимические показатели воды в торфе [5-7]. Данные результаты мы использовали в своих исследованиях для

определения факторов, влияющих на микотрофность болотных растений.

Наименования фитоценозов, в которых проводили исследования: 1 – сосняк берёзово-пушицево-клюквенно-сфагновый; 2 – сосняк берёзово-багульниково-клюквенно-сфагновый; 3 – сосняк берёзово-багульниково-сфагновый; 4 – сосняк берёзово-багульниково-пушицево-сфагновый; 5 – сосняк берёзово-чернично-сфагновый [4].

Во всех исследуемых корнях *Ledum palustre*, *Vaccinium uliginosum* и *Oxycoccus palustris* выявили эрикоидные грибы, которые локализовались в тонких «волосовидных» корнях и были представлены гифальными клубками в клетках ризодермы и наружным мицелием.

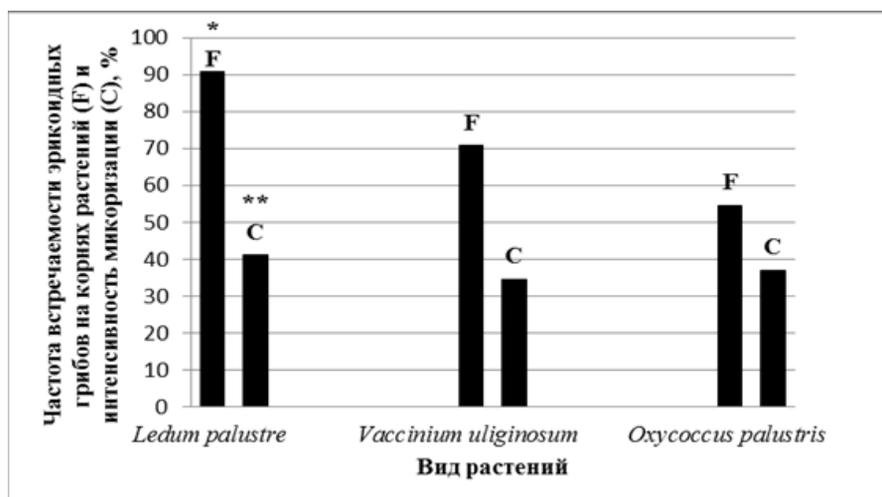
Микотрофность *Ledum palustre* в пяти исследуемых фитоценозах варьировала незначительно: частота встречаемости эрикоидных грибов составляла 86-95%. Самые высокие показатели частоты встречаемости (выше 90%) наблюдали на ПП 4 (сосняк берёзово-багульниково-пушицево-сфагновый), ПП 2 (сосняк берёзово-багульниково-клюквенно-сфагновый) и ПП 5 (сосняк берёзово-чернично-сфагновый). Интенсивность микоризации (С) во всех исследуемых корнях *Ledum palustre* была схожей: 38-44%. Статистически достоверная разница между показателями микотрофности *Ledum palustre* на пяти пробных площадях не была выявлена (p>0, 05).

Частота встречаемости эрикоидных грибов в корнях *Vaccinium uliginosum* на всех пробных площадях составляла 61-85%, интенсивность микоризации – 26-45%. Самые высокие показатели частоты встречаемости микоризных грибов у голубики обыкновенной (>80%) наблюдали на ПП 4 (сосняк берёзово-багульниково-пушицево-сфагновый), установлена статистически достоверная разница с ПП 5 (сосняк берёзово-чернично-сфагновый) и ПП 3 (сосняк берёзово-багульниково-клюквенно-сфагновый). Самая высокая интенсивность микоризации (>40%) у растений данного вида наблюдали также на ПП 4 (сосняк берёзово-багульниково-пушицево-сфагновый);

статистически достоверная разница установлена с ПП 1 (сосняк берёзово-пушицево-клюквенно-сфагновый). Микотрофность *Oxycoccus palustris* на всех исследуемых участках варьировала: частота встречаемости эрикоидных грибов была в пределах 47-66%, интенсивность микоризации – 28-49%. На пробной площади ПП 4 наблюдали самые высокие показатели частоты встречаемости (>60%) и интенсивности микоризации (>40%). Установлена статистически достоверная разница интенсивности микоризации *Oxycoccus palustris* на пробных площадях №4 и №1 (сосняк берёзово-пушицево-клюквенно-сфагновый), ПП№4 и ПП№2 (сосняк берёзово-багульниково-клюквенно-сфагновый); на ПП №1 и ПП №2. Высокая микотрофность *Vaccinium uliginosum* и *Oxycoccus palustris* на ПП 4 по-видимому, связана с хорошей освещённостью (самый высокий показатель сквозистости – 72%) и низкими показателями рН (5,5), минерализации (0,3 мг/л), жёсткости (0,55 мг-экв/л) воды на болоте, что косвенно указывает на низкое плодородие почвы. Известно из литературы, что эрикоидные грибы колонизируют в большей степени корни растений

произрастающих на бедных почвах, помогая тем самым выжить им при дефиците питания. Известно также, что растения лучше фотосинтезируют при более интенсивном освещении, а значит, могут отдать больше органических веществ микоризным грибам и способствуют их лучшему развитию [2].

Определили среднюю частоту встречаемости эрикоидных грибов и интенсивность микоризации (рисунок) в корнях *Ledum palustre*, *Vaccinium uliginosum* и *Oxycoccus palustris* на всех пяти пробных площадях. Самая высокая частота встречаемости эрикоидных грибов была у *Ledum palustre*. Установлена статистически достоверная разница между частотой встречаемости эрикоидных грибов на корнях *Ledum palustre* (F(B)) и *Vaccinium uliginosum* (F(Г)), *Ledum palustre* (F(B)) и *Oxycoccus palustris* (F(K)). Наибольшая интенсивность микоризации отмечалась также у *Ledum palustre*. Статистически достоверная разница была установлена только между интенсивностью микоризации *Ledum palustre* (C(B)) и *Vaccinium uliginosum* (C(Г)).



* – различия статистически достоверны в сравнении с F(Г) и F(K), $p < 0,05$;

** – различия статистически достоверны в сравнении с C(Г), $p < 0,05$

Рис. – Средние показатели (на пяти пробных площадях) частоты встречаемости (F, %) эрикоидных грибов и интенсивности микоризации (C, %) в корнях, *Vaccinium uliginosum* и *Oxycoccus palustris*

Таким образом, в пяти исследуемых болотных фитоценозах (тип леса: *Pinetum ledosum*) частота встречаемости эрикоидных грибов на корнях *Ledum palustre* варьировала в небольших пределах 86-95%, на корнях *Vaccinium uliginosum* – 61-85%, на *Oxycoccus palustris* – 47-66%. Интенсивность микоризации *Ledum palustre* составляла 38-44%, *Vaccinium uliginosum* – 26-45%, *Oxycoccus palustris* – 28-49%. У *Vaccinium uliginosum* и *Oxycoccus palustris* на пробной площади №4 (сосняк берёзово-багульниково-пушицево-сфагновый) выявили самые высокие показатели микотрофности, что, по-видимому, связано с более интенсивной освещённостью в данном фитоценозе, низкими значениями рН, минерализации, жёсткости воды. Наиболее высокая частота встречаемости эрикоидных грибов (средний показатель на всех исследуемых пробных площадях) выявлена у *Ledum palustre* (91 %), несколько ниже – у *Vaccinium uliginosum* (71%), а наименьшая – у *Oxycoccus palustris* (55%). Интенсивность микоризации у трёх исследуемых видов растений варьирует незначительно (35-41%).

Список литературы

1. Дьяков, Ю.Т. Микология сегодня / Ю.Т. Дьяков, Ю.В. Сергеев (ред.). – Том 1. – М: Национальная академия микологии, 2007. – 376 с.
2. Смит, С.Э. Микоризный симбиоз / С.Э. Смит, Д. Дж. Рид. – М: Товарищество научных изданий КМК, 2012. – 776 с.
3. Бетехина, А.А. Микротехнические исследования на базе современного оборудования руководство к практическим занятиям / А.А. Бетехина, И.А. Уткина. – Екатеринбург: Уральский государственный университет имени А.М. Горького, 2008. – 110 с.
4. Созинов О.В. Оптимизация оценки урожайности сырья *Ledum palustre* (Ericaceae) на ключевом участке // Растительные ресурсы. – 2015. – №51 (2). – С. 213-220.
5. Созинов, О.В. Оценка урожайности *Cornus Ledi palustris*: сравнение методик / О.В. Созинов, О.С. Рымша // Материалы конференции «Х Галкинские Чтения», Санкт-Петербург, 4-6 февраля 2019 / Ботанический ин-

- ститут имени В.Л. Комарова: Юрковская Т.К. (гл. ред.) [и др.]. – Санкт-Петербург, 2019. – 192-193с.
6. Белова, Е.А. Гидрохимическая характеристика воды верхового болота в условиях ландшафтного заказника «Озёры» / Е.А. Белова, М.А. Матюх, О.В. Созинов // Экологические проблемы природных и урбанизированных территорий: материалы VIII междунар. науч.-практ. конф., Астрахань, 21-22 мая 2015 / Астрах. гос. ун-т; редкол.: Брамин А.Н. (гл. ред.) [и др.]. – Астрахань, 2015. – С. 6-8.
7. Белова, Е.А. Геоботаническая характеристика болотных фитоценозов в условиях ландшафтного заказника «Озёры» / Е.А. Белова, М.А. Матюх, О.В. Созинов // Научная Украина: материалы всеукраинской студ. науч. конф. с междунар. участием, Днепрпетровск, 25 мая 2015 г. / «SeKumSoftware», Ураин. гос. хим.-тех. ун-т; редкол.: Воробьева М.И. [и др.]. – Днепрпетровск, 2015. – С. 67-70.

РАСШИРЕНИЕ АРЕАЛА РЖАВЧИННОГО ГРИБА *GYMNOSPORANGIUM SABINAE* ПРИ ИЗМЕНЕНИИ КЛИМАТА

Жиров И.А., Малеева Ю.В.

Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова

Ржавчинные грибы – уникальная группа фитопатогенов, характеризующаяся сложным жизненным циклом со сменой ядерных фаз, происходящей на разных растениях-хозяевах. Коэволюция данной системы «паразит-хозяин» происходит миллионы лет в условиях меняющегося климата. После тепловой аномалии 2010 года ряд исследователей высказывали опасения относительно сдвига северных границ ареала на север в отношении ряда ржавчинных грибов, в том числе и *Gymnosporangium sabinae*. Во второй половине 2010-х это опасение подтвердилось. В настоящее время проблема инфицирования груш паразитическим грибом *G. sabinae*, характерным для южных регионов с более теплым климатом, крайне актуальной стала для регионов средней полосы России.

Мы оценили встречаемость в Московском регионе *G. sabinae* и провели сравнительный анализ пораженности листьев возбудителем европейской ржавчины груши. В 2020 году в Московском регионе наблюдаются очаговые вспышки *G. sabinae* и расширение его ареала, по-видимому, вызванные как климатическими факторами, так и антропогенным влиянием (распространение зараженного посадочного материала). В частности, возбудитель европейской ржавчины груши впервые был документально зафиксирован на территориях Звенигородской биологической станции МГУ и Ботанического сада МГУ на Воробьевых горах, где постоянно ведется мониторинг микобиоты.

В результате проведенного анализа различий площадей поражения ржавчиной листьев груши в разных локациях можно прийти к выводу, что для Московского региона корреляции с абиотическими факторами, такими как температура, влажность, роза ветров, минеральное питание, открытость территории, не наблюдается. В качестве возможного объяснения сходства характеристик выборок из разных локаций с выборками из ботанических садов видится общность посадочного материала: реализация зараженных хвойников и их высаживание на приусадебные участки и в городском озеленении может стать важным фактором распространения возбудителя.

Усиление континентальности климата ржавчина груши переносит достаточно легко, демонстрируя расширение ареала, наблюдающееся в последние годы, и высокую численность патогена, по-видимому, из-за того, что стадия многолетнего мицелия в коре древесного растения и кустарника хорошо защищена от погодных условий. Таким образом, многолетние груша и можжевельник повышают приспособленность фитопатогена к достаточно агрессивным внешним условиям, что требует разработки специальных мер фитосанитарного контроля и обработки.

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Current Mycology in Russia

Том 9

Выпуск 3.
Паразитизм и симбиоз

Глава 6.
Лишайники
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.06

Глава 7.
**Взаимоотношения грибов,
бактерий и растений. Микориза**
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.07

Volume 9

Issue 3.
Fungal parasitism and symbiosis

Chapter 6.
Lichenology
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.06

Chapter 7.
**Fungal relations to bacteria
and plants. Mycorrhiza**
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.07

Содержание выпуска 3

Глава 6. Лишайники

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ШИРОКОАРЕАЛЬНЫХ ПОЛИМОРФНЫХ ВИДОВ ЛИШАЙНИКОВ ПОДРОДА <i>UMBILICARIA</i> ГОЛАРКТИКИ: ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ Давыдов Е. А., Яковченко Л. С.	176
ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ПЛОТНОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ОХРАНЯЕМЫХ ЛИШАЙНИКОВ В ЛИПОВЫХ ЛЕСАХ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «САЛАИР» (АЛТАЙСКИЙ КРАЙ) Давыдов Е. А., Елесова Н. В., Хрусталева И. А., Стороженко Ю. В., Яковченко Л. С.	177
ЛИШАЙНИКИ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ «УРОЧИЩЕ ЗАОЗЕРЬЕ» (ПСКОВСКАЯ ОБЛАСТЬ) Н. Б. Истомина, О. В. Лихачева.	179
АККУМУЛЯЦИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ЭПИФИТНЫХ ЛИШАЙНИКАХ В УСЛОВИЯХ ПОДЗОНЫ СРЕДНЕЙ ТАЙГИ В ЛЕСНЫХ И БОЛОТНЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ Катаева М.Н., Беяева А.И.	180
СОВРЕМЕННЫЕ НАХОДКИ <i>LOBARIA PULMONARIA</i> (L.) HOFFM. И <i>USNEA FLORIDA</i> (L.) WEBER EX F. H. WIGG. (ASCOMYCOTA) В НАЦИОНАЛЬНОМ ПАРКЕ «СМОЛЕНСКОЕ ПООЗЕРЬЕ» (СМОЛЕНСКАЯ ОБЛАСТЬ) Мучник Е.Э., Тихонова Е.В.	182
ЦЕНОПОПУЛЯЦИЯ ЦЕТРАРИИ ИСЛАНДСКОЙ <i>SETRARIA ISLANDICA</i> НА ТЕРРИТОРИИ ЩУКИНСКОГО ПОЛУОСТРОВА (ПРИРОДНО-ИСТОРИЧЕСКИЙ ПАРК «МОСКВОРЕЦКИЙ», Г.МОСКВА): ДИНАМИКА И СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ Пчелкин А.В., Пчелкина Т.А.	184
ДОПОЛНЕНИЕ В КРАСНУЮ КНИГУ УЛЬЯНОВСКОЙ ОБЛАСТИ: ЛИШАЙНИК <i>LECANIA ALEXANDRAE</i> TOMIN VAR. <i>SPERKII</i> OXNER Шустов М.В.	186
К ИЗУЧЕНИЮ ЛИШАЙНИКОВ БОЛОТ САМОТЛОРСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ (ЗАПАДНАЯ СИБИРЬ, ХМАО-ЮГРА) Толпышева Т.Ю., Шишконокова Е.А.	187
ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛИХЕНОБИОТЫ ХВОЙНЫХ ЛЕСОВ БЕЛАРУСИ Яцына, А.П.	189

Глава 7. Взаимоотношения грибов, бактерий и растений. Микориз

ЛЮБОПЫТНЫЙ ФЕНОМЕН ПИТАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОЯДНОГО КЛОПА <i>GRAPHOSOMA LINEATUM</i> МУХАМИ <i>EMPIS TESSELLATA</i> , ПОГИБШИМИ ОТ ПОРАЖЕНИЯ ЭНТОМОПАРАЗИТИЧЕСКИМ ГРИБОМ <i>ENTOMORHYNORA MUSCAE</i> Борисов Б.А.	191
ИЗУЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ШТАММА <i>OIDIODENDRON MAIUS</i> Чуркина Л.М., Марко А.А., Стручкова И.В., Березина Е.В.	192
ДЕРМАЛЬНОГО НЕКРОЗА У АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ (<i>SALMO SALAR</i> L.) Карасева Т.А.	194
РАСТИТЕЛЬНЫЕ SWEET ТРАНСПОРТЕРЫ В АРБУСКУЛЯРНО-МИКОРИЗНОЙ СИМБИОСИСТЕМЕ Крюков А.А., Юрков А.П.	195
МАКРОСИГНАЛИНГ В ОПОРТУНИСТИЧЕСКОМ ГРИБКОВОМ СООБЩЕСТВЕ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА Лахтин В.М., Лахтин М.В., Байракова А.Л.	196
БЕЛКИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ С АНТИКАНДИДНЫМ ДЕЙСТВИЕМ В ПОДДЕРЖКЕ ПРОБИОТИЧЕСКОГО КОМПАРТМЕНТА МУКОЗАЛЬНОГО БИОТОПА Лахтин В.М., Лахтин М.В., Байракова А.Л.	198
ШТАММЫ МИКРОМИЦЕТОВ С АНТАГОНИСТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ В ОТНОШЕНИИ БАКТЕРИИ <i>BACILLUS CEREUS</i> Лиховидов В.Е., Александрова А.В., Юскевич В.В.	200
ГРИБКОВО-БАКТЕРИАЛЬНЫЕ АССОЦИАЦИИ НА СЛИЗИСТОЙ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ. Лисовская С.А., Сафина Л.Ф., Каюмов А.Р., Романченко Ю.И.	202
ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ И ООМИЦЕТЫ КАК ХОЗЯЕВА И ПЕРЕНОСЧИКИ ВИРОИДОВ	

Мироненко Н.В., Хютти А.В., Лашина Н.М., Афанасенко О.С.	203
ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ И ООМИЦЕТЫ КАК ХОЗЯЕВА И ПЕРЕНОСЧИКИ ВИРОИДОВ	
Мироненко Н.В., Хютти А.В., Лашина Н.М., Афанасенко О.С.	205
ЭНДОБИОНТЫ ГРИБКОВЫХ КЛЕТОК КАК ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СИМБИОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕОРИИ	
Мурадова С.А., Гурбанов А.И., Гурбанова С.Ф.	206
К ВОПРОСУ ОБ ИЗУЧЕНИИ ФЕНОМЕНА «ПЛАТЫ» ЗА ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ У ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ	
Сафонова Т.И.	212
АНТАГОНИЗМ ЭНДОФИТНЫХ ДРОЖЖЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР, В ОТНОШЕНИИ НЕКОТОРЫХ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ	
Савченко В.Е., Глушакова А.М., Качалкин А.В.	214
АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПРЕСНЫХ ВОД	
Сырбу Т.Ф., Цуркан О.П., Молдован К.Е., Бурцева С.А., Бырса М.Н.	217
АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОЗЕРА ЛА ИЗВОР МУН. КИШИНЭУ	
Сырбу Т.Ф., Цуркан О.П., Молдован К.Е., Бурцева С.А., Бырса М.Н.	220
ОБРАЗОВАНИЕ ФИТОГОРМОНА ЗЕАТИНА ЭНДОФИТНЫМИ ДРОЖЖАМИ ИЗ ПЛОДОВ MALUS DOMESTICA	
Стрелецкий Р.А., Лепешко А.А., Глушакова А.М., Качалкин А.В.	222
УНГИСТАТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ КАРТОФЕЛЯ В ОТНОШЕНИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ	
Туама А.А., Карамова Н.С., Сабирова З.Р., Сташевски З.	224
АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ STREPTOMYCES MASSASPOREUS CNMN-AC-06 К ФИТОПАТОГЕННЫМ ГРИБАМ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ ПЕРЕСЕВАМИ И ЛИОФИЛИЗАЦИИ	
Васильчук А.В., Гарбузняк А.А., Бырса М.Н., Бурцева С.А.	226
ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ МИКРОБОКСОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ГОРОХА, УЧАСТВУЮЩИХ В ПУТИ БИОСИНТЕЗА КУТИНА, ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ РАСТЕНИЙ АРБУСКУЛЯРНО-МИКОРИЗНЫМИ ГРИБАМИ И КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ	
Зорин, Е.А., Штарк, О.Ю., Романюк, Д.А., Кулаева, О.А., Афонин, А.М., Гордон, М.Л., Жернаков, А.И., Ахтемова, Г.А., Жуков, В.А.	228
ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ ГРИБНОЙ И БАКТЕРИАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ В КОРНЕОБИТАЕМОЙ ЗОНЕ РАСТЕНИЙ ПРИМЕНИТЕЛЬНО К УСЛОВИЯМ ВЫРАЩИВАНИЯ В КОСМИЧЕСКОЙ ВИТАМИННОЙ ОРАНЖЕРЕЕ ДЛЯ РОССИЙСКОГО СЕГМЕНТА МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ	
Ильин В.К., Коршунов Д.В., Морозова Ю.А., Дешева Е.А., Беркович Ю.А., Иванова А.А., Смолянина С.О.	231

Глава 6. Лишайники

doi: 10.14427/cmr.2022.ix.06

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ШИРОКОАРЕАЛЬНЫХ ПОЛИМОРФНЫХ ВИДОВ ЛИШАЙНИКОВ ПОДРОДА *UMBILICARIA* ГОЛАРКТИКИ: ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ

Давыдов Е. А.¹, Яковченко Л. С.²¹Алтайский государственный университет, г. Барнаул.²ФНЦ Биоразнообразие ДВО РАН, г. Владивосток

Род *Umblicaria Hoffm. (Umblicariaceae, Lecanoromycetes)* хорошо морфологически и филогенетически очерченная группа лишайников, объединяющая около 100 видов, встречающихся в обоих полушариях, в основном в высокогорных и полярных местообитаниях [1, 2], где во флорах *Umblicaria* является одним из ведущих родов по числу видов, выполняя важную экологическую роль при заселении каменистых субстратов [3-6]. В 2017 году на основе мультигенной филогении и анализа сопряженности фенотипических признаков предложена новая система семейства [1]. Были получены филогенетические сигналы немонофилетичности некоторых видов из разных частей ареала, однако вопросы филогенетической дифференциации отдельных видов и их комплексов требуют отдельного внимания, часть из них, касающаяся *Umblicaria subg. Papillophora* решена [7-10], работа с *Umblicaria subg. Umblicaria* активно ведется в настоящее время.

Большинство видов подрода *Umblicaria* приурочено к Арктике и горным территориям Голарктики [1, 11]. Находясь в сходных суровых условиях приполярных областей и высокогорного пояса, некоторые виды проявляют конвергентное сходство и трудноотличимы. Морфологическая вариабельность и широчайшее распространение многих видов с голарктическими, биполярными, широко-дизъюнктивными ареалами затрудняет разделение видовых комплексов на дискретные виды на основе только морфологических признаков. Все это делает неопределенным статус многих широко известных и широко распространенных полиморфных видов. Требуется проверка их предполагаемой гетерогенности с привлечением образцов из различных частей ареала и разных высотно-климатических поясов.

Вид является одной из базовых категорий биологии, а изучение видообразования – важнейшее направление эволюционных исследований [12]. Отграничение видов является сложной задачей, поскольку вид представляет собой результат явлений видообразования, и в то же время источник новых последующих видов, и поэтому мы имеем дело не только с разнообразием видов, но и с разнообразием этапов их дифференциации. Отсюда сложность обобщения огромного разнообразия существующих в природе ситуаций, и множественность подходов к подобным обобщениям. Существуют различные концепции вида: типологическая, номиналистическая, биологическая, хеннигова, эволюционная и филогенетическая и др. Усиление значения молекулярной филогении в исследованиях по систематике привело к тому, что эволюционная теория играет ключевую роль в современном мире таксономических исследований [13]. Важнейшим ключом к пониманию значения эволюционной судьбы в концепции вида является принцип общего

предка, который гласит, что только история формирования вида должно быть определяющим для его признания [14]. Фенотипические признаки дают ценную информацию для понимания границ видов, в то же время данные последовательностей ДНК могут непосредственно давать генетическое свидетельство определенного статуса линий, независимо от того, отличаются ли эти линии фенотипическими признаками, которые очевидны для исследователя [15-16].

Последние исследования значительно изменили наше понимание разграничения видов лишайников. Выявлено огромное количество криптических видов, с другой стороны, некоторые линии, которые хорошо характеризуются фенотипически, трудно разделить при помощи молекулярно-филогенетических данных [17-19].

Начиная с 1990-х годов в систематике лишайников начинает превалировать методология генофилетики (филогеномики), таксономическая значимость традиционных (анатомических, морфологических и биохимических) признаков уменьшилась. Они, тем не менее, остаются по-прежнему важными для систематиков, поскольку молекулярно-филогенетическое древо "...отнодь не конечный результат филогенетических реконструкций, а скорее материал для дальнейших интерпретаций, содержательный контекст которых формируется при участии филогенетического мышления" [20]. В этой связи, морфологические, химические и молекулярные данные взаимно дополняют, а не подменяют друг друга» [21].

Молекулярные данные с самого начала применения метода с успехом привлекались исследователями и для разграничения видов в семействе *Umblicariaceae* [22-25]. В ходе начатого исследования проявления биологически и диагностически важных признаков будут анализироваться на фоне молекулярной филогенетической реконструкции. Детальный анатомо-морфологический анализ структур, возможно, позволит обнаружить иные общие признаки, объединяющие монофилетичные виды, нежели отмеченные предыдущими систематиками и считавшиеся важными для классификации таксонов. Для разрешения спорных вопросов видового статуса таксонов, будет проведено тестирование их монофилетичности в филограммах на базе молекулярных маркеров. Для разграничения видов в комплексах близкородственных линий будут использованы алгоритмы построения филогенетических сетей, а также весь арсенал современных активно развивающихся статистических методов, основанных на коалесценции.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 22-24-00283.

Список литературы

1. Davydov E.A., Peršoh D., Rambold G. 2017. Umbilicariaceae (Lichenized Ascomycota) – Trait evolution and a new generic concept // *Taxon*. 66: 1282–1303.
2. Давыдов Е. А. Семейство Umbilicariaceae // Флора лишайников России: Род *Protoparmelia*, семейства Coenogoniaceae, Gyalectaceae и Umbilicariaceae. М. – СПб: 2017. С. 66–136.
3. Давыдов Е.А., Урбанавичюс Г.П., Урбанавичене И.Н., Селиванов А.Е. 2019. *Umbilicaria freyi* – новый для России вид лишайника и другие виды рода *Umbilicaria* из Приэльбрусья (Центральный Кавказ, Кабардино-Балкария) // *Turczaninowia* 22(2): 94–109.
4. Ежкин А.К., Давыдов Е.А. 2021. Новые данные о лишайниках рода *Umbilicaria* Hoffm. с островов Парамушир и Сахалин // *Вестник Сев.-Вост. науч. центра ДВО РАН*. 1: 75–80.
5. Davydov E A., Himelbran, D.E., Stepanchikova I. S. 2011. Contribution to the study of Umbilicariaceae (Lichenized Ascomycota) in Russia. II. Kamchatka Peninsula // *Herzogia* 24(2): 229–241.
6. Kappen L., Schroeter B., Green T. et al. 1998. Chlorophyll a fluorescence and CO₂ exchange of *Umbilicaria aprina* under extreme light stress in the cold // *Oecologia* 113: 325–331.
7. Davydov E.A., Calchera A., Masson D., Otte J., Printzen C., Singh G., et al. 2021. Evolution of the *Umbilicaria crustulosa* species complex – an integrative taxonomy approach // *International Association for Lichenology 9th Symposium*. Pp. 160–161.
8. Davydov E. A., Masson D. 2022. *Umbilicaria meizospora* comb. nov. – a southwestern European endemic species of the subgenus *Papillophora* // *Lichenologist* 54(1): 1–12.
9. Davydov E. A. 2022. *Umbilicaria platyrhiza* – a new Mediterranean endemic species of the subgenus *Papillophora* (Umbilicariaceae, lichenized Ascomycota) // *Phytotaxa* 533 (2): 143–148.
10. Davydov E. A., Yakovchenko L. S., Urbanavichene I., Konoreva L., Chesnokov S., Kharpuksaeva T., et al. 2020. *Umbilicaria orientalis* – a new species of *Umbilicaria* subg. *Papillophora* with an East Asian distribution: morphological delimitation and molecular evidence // *Lichenologist*, 52(5): 353–364.
11. Kristinsson H., Zhurbenko M., Hansen E. S. 2010. Panarctic Checklist of Lichens and Lichenicolous Fungi. CAFF Technical Report No. 20. Akureyri: 120 p.
12. de Queiroz K. 2007. Species concepts and species delimitation // *Systematic Biology* 56: 879–886.
13. Padial J., Miralles A., De la Riva I., Vences M. 2010. The integrative future of taxonomy // *Frontiers in Zoology* 7: 1.
14. Simpson G. G. 1951. The species concept // *Evolution* 5: 285–298.
15. Fujita M.K., Leaché A.D., Burbrink F.T., McGuire J.A., Moritz C. 2012. Coalescent-based species delimitation in an integrative taxonomy // *Trends in Ecology and Evolution* 9: 480–488.
16. Lücking R., Leavitt S. D., Hawksworth D. 2021. Species in lichen-forming fungi: balancing between conceptual and practical considerations, and between phenotype and phylogenomics // *Fungal diversity* 109(1):1–56.
17. Leavitt S.D., Divakar P.K., Crespo A., Lumbsch T. 2016. A matter of time – understanding the limits of the power of molecular data for delimiting species boundaries // *Herzogia* 29 (2): 479–492.
18. Alors D., Lumbsch H. T., Divakar P. K., Leavitt S. D., Crespo A. 2016. An integrative approach for understanding diversity in the *Punctelia rudecta* species complex (Parmeliaceae, Ascomycota) // *PLoS ONE* 11(2): e0146537.
19. Lücking R., Moncada B., McCune B., Farkas E., Goffinet B., Parker D., et al. 2017. *Pseudocyphellaria crocata* (Ascomycota: Lobariaceae) in the Americas is revealed to be thirteen species, and none of them is *P. crocata* // *Bryologist* 120 (4): 441–500.
20. Павлинов И. Я. 2007. Филогенетическое мышление в современной биологии // *Журнал общей биологии* 68(1): 19–34.
21. Printzen C. 2010. Lichen Systematics: The Role of Morphological and Molecular Data to Reconstruct Phylogenetic Relationships // *Progress in Botany* 71: 233–278.
22. Ott S., Brinkmann M., Wirtz N., Lumbsch H.T. 2004. Mitochondrial and nuclear ribosomal DNA data do not support the separation of the Antarctic lichens *Umbilicaria kappeni* and *Umbilicaria antarctica* as distinct species // *Lichenologist* 36: 227–234.
23. Krzewicka B., Garsía M.A., Johansen S.D., Sancho L.G., Martín M.P. 2009. Morphological and nuclear ribosomal DNA data support distinguishing two new species of *Umbilicaria* (Umbilicariaceae, Ascomycota) from Europe // *Lichenologist* 41 (6): 631–648.
24. McCune B. 2018. Two new species in the *Umbilicaria torrefacta* group from Alaska and the Pacific Northwest of North America // *Graphis Scripta* 30 (6): 65–77.
25. McCune B., Curtis, M.J. 2012. *Umbilicaria semitensis* (lichenized fungi: Umbilicariaceae) resurrected // *Bryologist* 115: 255–264.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ПЛОТНОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ОХРАНЯЕМЫХ ЛИШАЙНИКОВ В ЛИПОВЫХ ЛЕСАХ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «САЛАИР» (АЛТАЙСКИЙ КРАЙ)

Давыдов Е. А.^{1,2}, Елесова Н. В.¹, Хрусталева И. А.³, Стороженко Ю. В.^{1,2}, Яковченко Л. С.⁴

¹Алтайский государственный университет, г. Барнаул;

²Государственный заповедник «Тигирекский», г. Барнаул;

³ФИЦ угля и углекислоты СО РАН, г. Кемерово;

⁴ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, г. Владивосток

Липа сибирская (*Tilia sibirica* Bayer) – широколистное листопадное дерево, которое является эндемиком нескольких участков на юге Сибири, расположенных примерно в 2000 км к востоку от границы биота европейских лиственных лесов [1]. *Tilia sibirica* – единственный естественный ле-

сообразующий вид широколиственных деревьев в Сибири; леса с липой сибирской отражают историю формирования растительности Сибири с плиоцена, служат местообитанием третичных неморальных реликтов, видовая насыщенность которых здесь самая высокая среди всех сообществ

Сибири, а также местообитанием редких, исчезающих, эндемичных видов [2, 3]. Леса с липой сибирской относятся к числу редких растительных сообществ в Алтайском крае, а также во всей Сибири [4-6]. Информация о липовых лесах в Алтайском крае очень скудна [7-10]. Липовые леса Салаира вошли в недавно созданный в Алтайском крае национальный парк «Салаир» [11-13].

В третье издание Красной книги Алтайского края включены 23 вида лишайников [14]. Большинство охраняемых видов обитают в горных лесах Алтая и Салаира в восточной части края. С территории Присалаирского района Алтайского края до недавнего времени указывалось два вида – *Lobaria pulmonaria* [15] и *Ramalina sinensis* [16]. В 2019 году авторами начато планомерное обследование Салаирского края в пределах Алтайского края для изучения эколого-ценотического распределения редких видов лишайников [17]. Всего в Присалаирском районе обнаружено восемь видов охраняемых в Алтайском крае лишайников [18].

Цель работы – оценка плотности популяций редких и охраняемых видов в растительных сообществах с доминированием липы сибирской. Растительные сообщества были описаны на 25 участках площадью 400 квадратных метров каждый. Чтобы оценить плотность популяций охраняемого лишайника, проективное покрытие каждого вида глазомерно оценивалось на каждом стволе дерева на высоте от 0 до 3 м со всех сторон ствола. Было обследовано около тысячи деревьев и выявлено семь видов охраняемых лишайников, занесенных в Красную книгу Алтайского края, среди них *Graphis scripta* и *Ramalina roesleri* обычны на Салаире, а *Heterodermia speciosa*, *Lobaria pulmonaria*, *Nephroma bellum*, *Ramalina sinensis*, и *R. vogulica* – редки.

Охраняемые лишайники были обнаружены на трех форофитах – *Tilia sibirica*, *Abies sibirica* и *Sorbus sibirica*. Все виды растут на *Tilia sibirica*. Кроме того, *Ramalina roesleri* был обнаружен единожды на *Abies sibirica* и *Graphis scripta* – дважды на *Sorbus sibirica*. На *Populus tremula* и *Padus avium* охраняемых видов лишайников не было выявлено. В обследованных лесах липа сибирская доминировала как по количеству деревьев, так и по площади коры. Другие деревья расположены во втором ярусе, в местах, менее благоприятных для лишайников.

Получены данные о плотности популяций изученных видов. Наибольшей плотностью (15-35 дм²/га) характеризуются *Graphis scripta*, *Ramalina roesleri* и *Lobaria pulmonaria*. Плотность остальных видов незначительна и составляет 0,5 – 2,5 дм²/га [19]. Результаты использованы при обосновании границ национального парка «Салаир» [13], они лягут в основу работ по мониторингу изменений численности и плотности популяций, как научной основы ведения Красной книги и оценки эффективности мер охраны редких и уязвимых видов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Алтайского края в рамках научного проекта № 19-44-220003.

Список литературы

- Novák J, Trotsiuk V, Sýkora O, Svoboda M, Chytrý M (2014). Ecology of *Tilia sibirica* in a continental hemiboreal forest, southern Siberia: An analogue of a glacial refugium of broadleaved temperate trees? *The Holocene* 24(8): 908–918.
- Лацинский Н.Н. (ред.) Флора Салаирского края. – Центральный сибирский ботанический сад СО РАН. – Новосибирск : Академическое изд-во “Гео”, 2007. – 252 с.
- Положий А. В., Крапивкина Э. Д. Реликты третичных широколиственных лесов во флоре Сибири. Томск: Изд-во ТГУ, 1985. 158 с.
- Малеев В.П. *Tilia sibirica* // Флора СССР, Том 15. – Москва: Издательство АН СССР, 1949. – С. 18–20.
- Гудошников С.В. Флора листостебельных мхов черного подпояса южных гор Сибири и проблема происхождения черневой тайги. – Томск: Издательство ТГУ, 1986. – С. 15–23.
- Крапивкина Э.Д. Липовый кустарниковый папоротниково-широколистный лес // Зеленая книга Сибири. – Новосибирск: Издательство РАН, 1996. – С. 104–107.
- Хлонов Ю. П. Липы и липняки Западной Сибири: Редакционно-издательский отдел СО АН СССР. Новосибирск 1965. – 156 с.
- Ермаков Н.Б. Классификация сибирских горных субнеморальных мелколиственно-темнохвойных и липовых лесов // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. – Барнаул: Издательство АГУ, 1995. – С. 30–60.
- Терехина Т. А., Копытина Т. М. *Tilia sibirica* Bayer – Липа сибирская // Красная книга Алтайского края. Растения. – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2016. – С. 191.
- Елесова Н.В. Фитоценологическая характеристика липовых лесов Алтайского края // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. – Барнаул: из-во АлтГУ, 2018. – С. 63-65.
- Кузменкин Д.В., Быков Н.И., Косачёв П.А., Бочкарёва Е.Н., Давыдов Е.А. Состояние изученности природных комплексов национального парка «Салаир» на момент его организации // Человек и природа – взаимодействие на особо охраняемых природных территориях. Материалы докладов четвертой Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. С. 23-28.
- Быков Н.И., Вазов С.В., Гармс О.Я., Грибков А.В., Давыдов Е. А., Елесова Н. В., с соавт. Природные условия национального парка «Салаир» // Труды Тигирекского заповедника. 2021. № 13. С. 7–45.
- Зяблинцева М.В., Кузменкин Д.В., Грибков А.В., Пожидаева Л.В., Смирнова Л.Я., Яковченко Л.С., с соавт. Роль национального парка «Салаир» в сохранении видов, внесенных в Красную книгу Алтайского края // Российский журнал прикладной экологии, 2022. Вып. 2. С. 33–46.
- Давыдов Е. А. Лишайники. В кн.: Шмаков А. И. Силантьева М. М. (ред.) Красная книга Алтайского края. Том 1. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2016. – С. 209-233.
- Давыдов Е. А. Лишайник из Красных книг СССР и РСФСР *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. (Lobariaceae, Lichenes) в Алтайском крае // Флора и растительность Алтая. Барнаул, 1999. Т. 4 (1). С. 18–23.
- Стась Е. Ю. Находка *Ramalina sinensis* (Ramalinaceae, Lichenes) в Алтайском крае // *Turczaninovia*, 1999, т. 2, вып. 1. С. 43–44.
- Давыдов Е. А., Яковченко Л. С., Хрусталева И. А., Елесова Н. В. Экологические особенности и плотность популяций охраняемых лишайников в лесах с участием ели, пихты и сосны сибирской на Салаирском крае (Алтайский край) // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии, 2020. – Т. 19, № 2. С. 275–280.
- Davydov E. A., Smirnova L. Y., Storozhenko Y. V., Zyatnina M. V., Ryzhkova P. Y., Yakovchenko L. S. New localities

of protected lichen species on the Salair Ridge in Altai Territory // *Acta Biologica Sibirica*, 2022. Vol. 8. P. 143–153.
19. Davydov E. A., Elesova N. V., Khrustaleva I. A., Storozhenko Y. V., Zyatnina M. V., Yakovchenko L. S.

Ecological preferences and magnitudes of populations of protected lichens in linden forests on the Salair Ridge in Altai Territory // *Acta Biologica Sibirica*, 2022b. Vol. 8.

ЛИШАЙНИКИ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ «УРОЧИЩЕ ЗАОЗЕРЬЕ» (ПСКОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Н. Б. Истомина, О. В. Лихачева
Псковский государственный университет

Лишайники являются неотъемлемой частью различных экосистем, включая лесные. Леса являются зональным типом растительности на территории Псковской области и имеют значение для сохранения биологического разнообразия различных систематических групп организмов. Естественные и, особенно антропогенные, воздействия на лесные сообщества (вырубки, пожары, и др.) способствуют сокращению численности целого ряда видов живых организмов и в некоторых случаях их полному исчезновению в результате уничтожения местообитаний.

Однако, среди особо охраняемых природных территорий Псковской области лесные экосистемы представлены чрезвычайно мало, а преобладают водно-болотные природные комплексы. В ходе деятельности по сбалансированному расширению и развитию сети ООПТ в регионе в 2015 году создан памятник природы «Урочище Заозерье».

В состав памятника природы входят три взаимосвязанных природных объекта, которые представляют собой единый ландшафтно-экологический комплекс (Истомин и др., 2016): лесной массив Араповский бор, озеро Заозерное и участок водно-болотного угодья на месте стока из озера.

Растительный покров лесного массива Араповский бор характеризуется высокой мозаичностью. На его территории выявлены сосновые, еловые и смешанные сообщества, отнесенные к различным ассоциациям. Преобладающей растительной формацией являются сосняки зеленомошные (сосняк кустарничково-зеленомошный, бруснично-зеленомошный, чернично-зеленомошный, лишайниково-зеленомошный и др.) с доминированием сосны обыкновенной. На территории памятника природы, кроме сосняков, фрагментарно встречаются ельники зеленомошные. В составе их древесного яруса преобладает ель европейская, присутствуют сосна обыкновенная, береза бородавчатая, рябина обыкновенная. Мелколиственные сообщества образованы березой бородавчатой, осинкой. По берегам озера встречаются сероольшаники травяные, где кроме ольхи серой в состав фитоценоза входят ольха черная, ива козья. По периферической части памятника природы на границе лесных сообществ и населенных пунктов единично встречаются дуб черешчатый, яблоня домашняя.

Авторами проведены инвентаризационные исследования лишайнобиоты памятника природы. Сбор и определение лишайников выполнены стандартными методами.

К настоящему времени для памятника природы составлен предварительный список лишайников, насчитывающий 72 вида.

Лишайники обследованной территории относятся к 3 эколого-субстратным группам: эпифиты, эпиксилы, эпигейды. Доминируют виды эпифитной эколого-субстратной группы. Среди них фоновыми видами, входящими в состав практически всех лесных сообществ, являются:

Hypogymnia physodes (L.) Nyl., *H. tubulosa* (Schaer.) Hav., *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf, *Parmelia sulcata* Taylor, *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Platismatia glauca* (L.) W. L. Culb. et C. F. Culb., *Vulpicida pinastri* (Scop.) J.-E. Mattsson et M. J. Lai.

На коре хвойных пород деревьев (сосна обыкновенная, ель европейская) встречаются *Tuckermannopsis chlorophylla* (Willd.) Hale, *Evernia mesomorpha* Nyl., *Parmeliopsis ambigua* (Wulfen) Nyl., *P. hyperopta* (Ach.) Arnold, *Usnea hirta* (L.) Weber ex F. H. Wigg., *U. subfloridana* Stirt., *Chaenotheca ferruginea* (Turner ex Sm.) Mig., *C. chrysocephala* (Turner ex Ach.) Th. Fr., *C. stemonea* (Ach.) Müll. Arg., *C. trichialis* (Ach.) Th. Fr., *Hypocenomyce scalaris* (Ach.) M. Choisy, *Lepraria incana* (L.) Ach.

На лиственных породах (осина, береза, дуб, черемуха и др.) поселяются *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr., *Melanelixia subaurifera* (Nyl.) O. Blanco et al., *Physcia stellaris* (L.) Nyl., *P. tenella* (Scop.) DC., *P. adscendens* H. Olivier, *Phaeophyscia orbicularis* (Neck.) Moberg, *Phlyctis argena* (Spreng.) Flot., *Melanohalea olivacea* (L.) O. Blanco et al., *Lecanora carpinea* (L.) Vain., *L. pulicaris* (Pers.) Ach., *L. symmicta* (Ach.) Ach., *Ramalina farinacea* (L.) Ach.

Выявлена приуроченность видов к определенным древесным породам. Только на сосне (сосняк лишайниковый) встречены *Imshaugia aleurites* (Ach.) S. L. F. Meyer, *Scoliosporium chlorococcum* (Graewe ex Stenh.) Vězda. В ельниках на коре ветвей ели европейской произрастают *Usnea dasopoga* (Ach.) Nyl., *Bryoria nadvornikiana* (Gyeln.) Brodo et D. Hawksw., *B. fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw. На березе бородавчатой встречены: *Cetraria sepincola* (Ehrh.) Ach., *Melanohalea exasperatula* (Nyl.) O. Blanco et al., *Lecanora varia* (Hoffm.) Ach. Эпифитами на осине являются: *Athallia holocarpa* (Hoffm.) Arup et al., *Caloplaca cerina* (Hedw.) Th. Fr., *Phaeophyscia ciliata* (Hoffm.) Moberg, *Physcia aipolia* (Ehrh. ex Humb.) Füllr. В комлевой части ствола осины обнаружена *Peltigera polydactylon* (Neck.) Hoffm.

В сероольшаниках травяных на ольхе серой выявлены *Melanelixia glabrata* (Lamy) Sandler et Arup, *M. subargentifera* (Nyl.) O. Blanco et al., *Physconia distorta* (With.) J. R. Laundon, *Loxospora elatina* (Ach.) A. Massal. В данном сообществе только на ольхе черной произрастает *Graphis scripta* (L.) Ach. На коре ивы козьей на стволе обнаружена *Lecidella euphorea* (Flörke) Hertel., а в комлевой части *Peltigera canina* (L.) Willd.

На обследованной территории встречаются виды лишайников эпигейной экологической формации из родов *Cetraria*, *Peltigera* и *Cladonia*. В сосняках лишайниковых типичными эпигеидами являются *Cetraria ericetorum* Opiz, *C. islandica* (L.) Ach., *Peltigera didactyla* (With.) J. R. Laundon, *P. rufescens* (Weiss) Humb., *Cladonia cornuta* (L.) Hoffm., *C. deformis* (L.) Hoffm., *C. gracilis* (L.) Willd. s. l., *C. mitis* Sandst., *C. uncialis* (L.) Weber ex F. H. Wigg. s. l., *C. arbuscula* (Wallr.)

Flot., *C. stellaris* (Opiz) Pouzar et Vězda, *C. rangiferina* (L.) F. H. Wigg.

Типичными эпиксиллами в районе исследований является *Cladonia botrytes* (K. G. Hagen) Willd., *C. chlorophaea* (Flörke ex Sommerf.) Spreng.

Многие виды лишайников встречаются на разных субстратах. Так, *Cladonia cenotea* (Ach.) Schaer., *C. coniocraea* (Flörke) Spreng., *C. digitata* (L.) Hoffm., *C. fimbriata* (L.) Fr. часто встречаются в лесных сообществах в комлевых частях деревьев хвойных и лиственных пород и на разлагающейся древесине (пни, поваленных стволы). В сосняках зеленомошных *Cladonia crispata* (Ach.) Flot., *C. cornuta* (L.) Hoffm. обнаружены и на почве, и в основание стволов сосен. *Cladonia macilenta* Hoffm. произрастает на пнях, в комлевых частях стволов хвойных деревьев, а *Cladonia sulphurina* (Michx.) Fr. обнаружена в основании стволов сосны обыкновенной, на разлагающейся древесине, почве. На почве, пнях, поваленных стволах в различных лесных сообществах встречается *Cladonia rangiferina* (L.) F. H. Wigg.

На территории памятника природы обнаружено 3 вида, подлежащих охране в Псковской области (Красная..., 2014): *Bryoria nadvornikiana* (Gyeln.) Brodo et D. Hawksw., *B.*

subcana (Nyl. ex Stizenb.) Brodo & D. Hawksw., *Chaenotheca stemonea* (Ach.) Müll. Arg.

Выявлено 2 индикаторных вида лишайников ненарушенных старовозрастных сообществ (Выявление..., 2009): *Chaenotheca stemonea* (Ach.) Müll. Arg., *Melanelixia subargentifera* (Nyl.) O. Blanco et al.

Список литературы

1. Истомин А. В., Истомина Н. Б., Лихачева О. В., Судницына Д. Н. «Урочище Заозерье» — новая региональная ООПТ Псковской области // Заповедники Крыма — 2016: биологическое и ландшафтное разнообразие, охрана и управление. Материалы VIII Международной научно-практической конференции (Симферополь, 28–30 апреля 2016 г.), Симферополь, 2016. С. 46–48.
2. Красная книга Псковской области. Псков, 2014. 544 с.
3. Выявление и обследование биологически ценных лесов на Северо-Западе Европейской части России. Т. 2. Пособие по определению видов, используемых при обследовании на уровне выделов / Отв. ред. Л. Андерсон, Н. М. Алексеева, Е. С. Кузнецова. СПб., 2009. 258 с.

АККУМУЛЯЦИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ЭПИФИТНЫХ ЛИШАЙНИКАХ В УСЛОВИЯХ ПОДЗОНЫ СРЕДНЕЙ ТАЙГИ В ЛЕСНЫХ И БОЛОТНЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ

Катаева М.Н., Беляева А.И.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

В настоящее время техногенное загрязнение становится все более значимым экологическим фактором. В регионе северо-запада европейской части мало изучен уровень загрязнения эпифитных лишайников и не установлены фоновые концентрации тяжелых металлов. В работе приводятся результаты анализов содержания микроэлементов в талломах эпифитных лишайников в условиях сообществ средней тайги на северо-западе России.

Тяжелые металлы, обладающие высокой токсичностью и кислотообразующие вещества – диоксид серы, оксиды азота в составе промышленных выбросов распространяются на значительные расстояния, вызывая загрязнение лесов в отдаленных регионах. Для оценки уровня загрязнения необходимы данные по элементному составу лишайников в естественных условиях лесных сообществ. Цель работы – выявить содержание тяжелых металлов в видах эпифитных лишайников сем. Parmeliaceae и их субстратах в зависимости от экологической амплитуды видов и характеристик микростообитания в лесных и болотных фитоценозах. С целью определения влияния древесного полога на состав лишайников, сравнивали содержание тяжелых металлов в *Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw., *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. в ярусе подлеска на рябине *Sorbus aucuparia* L. и можжевельнике *Juniperus communis* L. в сосняке кустарничково-зеленомошном.

Состав лишайников сопоставляли при разной степени влияния кроны ели, под пологом ельника кустарничково-зеленомошного и при слабом влиянии, в кустарничково-сфагновом.

Эпифитные лишайники собраны в южной части Ладжско-Онежского перешейка, Ленинградская обл., в ельниках на ели европейской *Picea abies* (L.) Karst., стволах березы повислой *Betula pendula* Roth., в сосняке кустарничково-зеленомошном. Образцы собирали на высоте 1,3 м, на стволиках рябины – на высоте 0,70–1,3 м. Материал для данной работы собран в 2018–2019 гг. Сбор образцов продолжен в 2020–2022 гг. В сообществах можжевельника на берегу Ладжского озера, мыс Шурягский, состав лишайников изучали микростообитаниях на сухих и живых ветвях. В ельнике кустарничково-сфагновом выделяли два типа микростообитаний на ветвях ели. Концентрации химических элементов Mn, Fe, Zn, Cu, Ni, Cd и Pb в образцах лишайников и субстратов определяли на ААС Квант-А-ФА, Россия. Образцы очищали, сушили в термостате (40°С). Воздушно-сухую навеску 2,0–2,5 г озолляли в муфеле (450°С), растворяли в 2N HCl при нагревании, фильтровали через фильтр «синяя лента», объем доводили до 15 мл деионизированной водой.

В результате анализов в лишайниках определены низкие концентрации металлов (табл. 1)

Таблица 1. Концентрации микроэлементов в *Pseudevernia furfuracea*, мг/кг

Субстрат	Ni	Cu	Cd	Pb	Fe	Mn	Zn
<i>Ельник кустарничково-сфагновый, по краю болота</i>							
Сухие ветви ели	0,75	2,64	0,123	2,19	265	79,9	25,7
Живые ветви ели	0,82	2,51	0,119	6,68	235	110	24,9
<i>Ельник кустарничково-зеленомошный</i>							
Сухие ветви ели	0,52	1,95	0,100	2,42	150	333	33,7
<i>Сосняк кустарничково-зеленомошный, под кронами</i>							
Стволики и ветви рябины	0,95	2,43	0,209	2,16	201	226	33,4
Живые ветви можжевельника	0,67	2,23	0,183	1,69	190	143	36,3
<i>Сообщества древовидного и кустарничкового можжевельника, берег Ладожского озера</i>							
Ствол живого можжевельника	1,26	2,46	0,320	3,84	410	48,5	26,0
Сухие ветви можжевельника	1,27	2,95	0,700	3,34	272	48,2	24,7

В основном, содержание *Cd* в *P. furfuracea* в сосняке и ельниках низкое. В лишайнике на разных форофитах и при разной степени влияния крон ели определены довольно низкие концентрации Ni и Cu. Это обычные элементы в составе выбросов производства цветной металлургии. В ельнике кустарничково-сфагновом лишайник в микроместообитаниях на ветвях ели накапливает более высокие концентрации Fe, по сравнению с условиями влияния сомкнутых крон ели, и меньшие концентрации Mn. В ельнике кустарничково-сфагновом на сухих ветвях ели в *P. furfuracea* сравнительно невысокие концентрации Mn (79,9 мг/кг). В конкретных микроместообитаниях этого ельника в лишайнике сильнее изменяется накопление Pb, Fe и Mn, по сравнению с условиями под кронами ельника. В заболоченных лесных сообществах и на болотах изменяется

обычный для условий под сомкнутыми кронами древостоя градиент влажности и освещенности. Лишайники открытых местообитаний по краям болота испытывают влияние освещенности. В таких условиях встречаются виды, выносящие высокую освещенность микроместообитаний. По сравнению с лесными сообществами, разнообразие видов на болотах снижается. На болотах более значительно количество видов эпифитных лишайников, чем эпигейных видов *p. Cladonia* на основаниях стволов из-за быстрого роста мохового покрова [1]. Градиент экологических условий в профиле лес-болото влияет на состояние лишайников и на видовой состав.

В талломах *B. fuscescens* обнаружены сходные изменения содержания микроэлементов на разных форофитах (табл. 2).

Таблица 2. Концентрации микроэлементов в *Bryoria fuscescens* в фитоценозах, мг/кг

С у б с т р а т	Ni	Cu	Cd	Pb	Fe	Mn	Zn
<i>местообитания</i>							
<i>Ельник кустарничково-зеленомошный</i>							
Сухие ветви ели	0,46	1,92	0,103	1,54	102	277	28,5
Ствол березы	0,65	1,80	0,218	1,41	77,8	820	58,5
<i>Сосняк кустарничково-зеленомошный, под кронами</i>							
Стволики и ветви рябины	0,43	1,47	0,093	1,16	52,4	374	23,1
Ствол живого можжевельника	0,70	2,17	0,162	1,50	119	170	39,2
<i>Сообщества древовидного и кустарничкового можжевельника, берег Ладожского озера</i>							
Живые ветви можжевельника	0,78	2,64	0,144	1,87	112	58,5	25,9
Сухие ветви можжевельника	0,85	2,14	0,140	2,63	128	38,7	19,3

Содержание Mn, одного из преобладающих микрокомпонентов в осадках под кронами в подзоне средней тайги, более сильно изменяется в лишайниках на разных форофитах. На форофитах в лишайниках есть различия Fe, Zn и Cd. Под пологом древостоя на ели, рябине и можжевельнике в лишайниках более высокие концентрации Mn, в *B.fuscescens* 170–374, *P.furfuracea* – 143–333 мг/кг. Под пологом леса в лишайниках концентрации Mn выше содержания Fe. На березе накопление Mn в *B.fuscescens* самое высокое, 820 мг/кг. На стволах берез *B.fuscescens* накапливает более высокие содержание Zn (58,5 мг/кг) и Cd (0,218 мг/

кг), что связано с условиями стока осадков по стволам. В открытых местообитаниях по краю болота в ельнике менее распространенный вид *B.fuscescens*, встречается на ветвях ели, и более широко – на стволиках и ветвях березы под низко опущенными кронами.

В сообществах можжевельника на берегу Ладоги отмечено довольно большое видовое разнообразие видов эпифитных лишайников [2]. В почвенном покрове присутствуют виды, обычные для лишайниковых сосняков. Лишайники в сообществах можжевельника на берегу Ладожского озера находятся под влиянием особого микро-

климата побережья и влияния переноса осадков и ветрового режима. В лишайниках на можжевельнике на берегу Ладожского озера обнаружено повышение концентраций Fe и Pb, также Cd, и снижение содержания Mn. На можжевельнике в *V.fuscescens* концентрации Mn – 38,7–58,5 мг/кг, что в 4,4 и 2,9 раза ниже, соответственно, по сравнению с условиями под пологом сосняка. Перенос тяжелых металлов в пространстве над Ладожским озером, источником которых, по-видимому, являются промышленные зоны близко расположенных территорий Карелии и южной части Финляндии, способствует возрастанию аккумуляции тяжелых металлов в лишайниках в сообществах на юго-восточном побережье озера. В кроне можжевельника концентрируются осадки разных типов.

Древесный ярус фитоценоза образуют разные породы, которые различаются своими способностями к пропуску осадков. В фитоценозе распределение осадков зависит от степени развития, сомкнутости крон и состава древесного полога. Кроме этого, количество осадков, пропускаемых пологом, изменяется по мере развития лесного сообщества [3]. Биологические особенности строения крон ели и березы определяют разную величину пропускания осадков кроной и стока по стволам. Для березы характерен собирающий тип кроны, с интенсивным стоком осадков по стволам, ель имеет сбрасывающий тип кроны, с типичным распределением осадков по краям кроны. В ельниках крона ели больше задерживает осадки, до 28% от открытого места, что превышает количество в березняках (около 15%). Строение кроны березы и угол прикрепления ветвей способствуют интенсивному стоку дождевых осадков по стволам с гладкой корой. Из-за интенсивного стока осадков на стволах березы в лишайнике *V.fuscescens* повышены концентрации биогенных микроэлементов, Zn и Mn, а также микроэлементов, не являющихся необходимыми для растений, обычных компонентов промышленных выбросов – Cd.

В кроне можжевельника осадки концентрируются, в лишайниках *P.furfuracea*, *V.fuscescens* на можжевельнике сильнее накапливаются микроэлементы. Состав лишайников на разных видах форофитов (ели, рябине, можжевельнике) в разных типах сообществ отличается, что связано с поступлением осадков в местообитания лишайников. В корке сухих ветвей можжевельника на берегу Ладожского озера концентрации тяжелых металлов (Pb, Fe, Cd) повышены, по сравнению с условиями в кроне можжевельника в ярусе подлеска.

В работе изучена степень загрязнения лишайников, в двух видах *P.furfuracea* и *V.fuscescens* определены фоновые концентрации тяжелых металлов, которые являются точкой отсчета для сравнений при оценке промышленного загрязнения. Выявлено влияние форофита (ель, рябина, можжевельник, береза) на аккумуляцию микроэлементов в талломах лишайников. При изучении загрязнения необходимо учитывать влияние вида форофита на эпифитные лишайники. Лесные сообщества и эпифитные лишайники на территории южной части Ладожско-Онежского перешейка остаются в близком к естественному состоянию, не загрязнены выбросами. В современных условиях энергетического кризиса и возрастании масштабов использования бурого угля на теплоэлектростанциях, в европейской части России возможно усиление влияния воздушных переносов выбросов на леса.

Работа выполнена по плановой теме НИР 2021–2023 гг. № 121032500047-1 «Растительность европейской части России и северной Азии: разнообразие, динамика и принципы организации».

Список литературы

1. Толпышева Т.Ю. Элементы структуры сообществ эпифитных лишайников олиготрофных болот Среднего Приобья (Западная Сибирь) // Вестник Моск. ун-та. сер. 16. Биол. 2004. № 4. С. 42–46.
2. Степанчикова И.С., Гагарина Л.В., Тагирджанова Г.М., Гимельбрант Д.Е. Лишайники можжевельниковых сообществ мыса Шурыгский (Ленинградская область) // Вестник Тверского гос.ун-та. Сер. биология и экология. 2015. 2: С. 121–126.
3. Пристова Т.А. Задержание атмосферных осадков пологом древостоя березово-елового молодняка в условиях средней тайги Республики Коми // Лесной вестник. 2022. Т. 26. № 1. С. 28–34.

СОВРЕМЕННЫЕ НАХОДКИ *LOBARIA PULMONARIA* (L.) HOFFM. И *USNEA FLORIDA* (L.) WEBER EX F. H. WIGG. (ASCOMYCOTA) В НАЦИОНАЛЬНОМ ПАРКЕ «СМОЛЕНСКОЕ ПООЗЕРЬЕ» (СМОЛЕНСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Мучник Е.Э.¹, Тихонова Е.В.²

¹Институт лесоведения РАН, с. Успенское, Одинцовский район, Московская область

²Центр экологии и продуктивности лесов РАН, Москва

Национальный парк (НП) «Смоленское Поозерье» административно находится в Демидовском и Духовщинском районах Смоленской области. Эта особо охраняемая природная территория федерального значения образована 15 апреля 1992 года, в 2002 году включена во Всемирную сеть биосферных резерватов ЮНЕСКО. НП общей площадью 146 237 га располагается в западной части Среднерусской возвышенности (бассейн р. Западная Двина), преиму-

ственно на Слободской холмисто-моренной возвышенности и Аржатско-Ельшанской озерно-ледниково-зандровой низине, а самая восточная и юго-восточная часть – на Духовщинской моренно-эрозионной возвышенности. Климат умеренно-континентальный, довольно влажный из-за влияния атлантических циклонов. Территория относится к подзоне хвойно-широколиственных (подтаежных) лесов [1]. Большая часть парка (74 %) покрыта лесами, из них:

41.2 % с доминированием березы, 13.8 % – ели, 12.5 % – сосны, 14 % осины, 9.3 % – ольхи серой, 6.5 % – дуба и 2.4 % – липы [2].

История лихенологических исследований в НП освещалась нами ранее [3], в данной работе остановимся лишь на фактах находок двух редких, занесенных в Красную книгу Российской Федерации [4] и Красную книгу Смоленской области [5] видов: *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. и *Usnea florida* (L.) Weber ex F. H. Wigg.

Первые сведения о находке *L. pulmonaria* предположительно на современной территории НП «Смоленское Поозерье» содержатся в статье Л.Г. Бязрова [6], где место проведения исследований указано как «коренные типы ельников на севере Смоленской обл., где сохранился сравнительно большой массив почти девственных широколиственно-еловых лесов». Вид был выявлен в дубо-ельнике кислично-ясменниковом [6, С. 117], в стволовом горизонте какого-то форофита/ов (исключая дуб и ель, списки эпифитных лишайников для этих древесных пород размещены в отдельной таблице [6, С. 120–121], встречаемость оценена в 2.5%, что, исходя из количества обследованных стволов («не менее 40», там же, С. 116), говорит о единичной находке, сделанной автором летом 1967 г.

В упомянутой статье [6] автор также пишет о находках *U. florida* летом 1967 г. на ветвях в нижней и верхней частях кроны упавшего дуба (32 м высотой), по-видимому, в том же дубо-ельнике кислично-ясменниковом. Но первая находка *U. florida* для территории НП «привязана» конкретнее: в статье Л.Г. Бязрова, Н.С. Голубковой [7] указывается Демидовский район, Слободской лесхоз, Гласковское лесничество, ельник кленово-кисличный, возрастом 120–150 лет, в первом ярусе древостоя при господстве ели присутствуют дуб, клен, ильм, липа, береза. Образец собран Л.Г. Бязровым на старой ели, 29 VII 1965.

Наши сборы лихенологических материалов выполнены в июне и июле 2022 г. Е.В. Тихоновой в рамках проведения геоботанических исследований в заповедной зоне НП, на территории Шуровской и Гласковской дач Ельшанского лесничества на двух пробных площадях (ПП).

ПП 1: 02.06.2022. Ельшанское лесничество, Шуровская дача, квартал 63, выдел 6, 55.60420° с.ш., 31.73482° в.д., 226 м н.у.м. Выражен микрорельеф. Почва: дерново-подзолистая поверхностно-глееватая суглинистая. Лес кленово-еловый с вязом шершавым и липой неморальноотравный. Много валежа клена, ели, осины (d до 40 см). Есть ветровальные окна размером до 80 м², заросшие лещиной (до 7 м высотой). Сомкнутость древесного яруса 50%, высота деревьев – 28 м. Измеренный буром возраст: ель (d=55 см) 112 лет. Подрост и подрост представлены липой, лещиной, вязом, ясенем. В травяном покрове преобладают ветреница дубравная (ее обилие, по-видимому, объясняется периодом описания) и звездчатка ланцетолистная, отмечены печеночница, кислица, зеленчук и др.

ПП 2: 07.06.2022 и 27.06.2022. Ельшанское лесничество, Гласковская дача, квартал 55, выдел 32, 55.56790° с.ш., 32.04549° в.д., 150 м н.у.м. Междуречье рек Скрытейка и Сермятка, выровненное положение. Микрорельеф вывальный, западины и повышения до 30 см. Почва: дерново-палево-подзолистая легкосуглинистая на средне-тяжелых суглинках. Лес дубово-липово-еловый с осинкой, кленом и вязом шершавым бореально-неморальноотравный. Много валежа старых деревьев ели и лиственных пород (диаметром до 50 см), разной степени разложения. Есть ветровальные окна, размером до 100 м². Сомкнутость древесного яруса 60–70%, высота деревьев – до 30–31 м. Измеренный буром возраст: ель (d=65 см) 132 г., клен (d=60 см)

109 лет. Ярус подроста и подлеска хорошо развит, его сомкнутость 55%, высота до 8–9 м, представлен в основном лещиной, елью, липой, значительно менее рябиной, осинкой, вязом шершавым, бересклетом и кленом. Травяной покров неравномерный, его проективное покрытие 50–60%, доминируют кислица, косяника, печеночница, звездчатка ланцетолистная. Покрытие мхов не превышает 3%.

Камеральная обработка и идентификация образцов проведены Е.Э. Мучник на базе Института лесоведения РАН, образцы планируется передать в гербарий Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (LE L).

Образец *L. pulmonaria* собран на ПП 2, где вид обитал на замшелом валеже лиственной породы (возможно, осины) (d=30 см). Таллом молодой (d около 15 см), собранная для идентификации часть не имеет апотециев и вегетативных пропагул. Вид является общепризнанным индикатором старовозрастных малонарушенных лесов в Европе [8 и мн. др.], индикатором биологически ценных лесов на Северо-Западе России [9] и сохраняет свои индикаторные свойства на территории лесной зоны Центральной России (в понимании Центрального Федерального округа) [10]. Хотя вид значится в лихенологических списках нескольких регионов Центральной России (Костромской, Курской, Московской, Смоленской, Тверской, Ярославской областей), современные (относящиеся к XXI в.) находки зафиксированы только в Костромской, Тверской и Ярославской областях, причем лишь в Тверской вид встречается спорадически в нескольких районах области [11], в остальных регионах находки сосредоточены в 1–2 районах, где приурочены к конкретным старовозрастным лесным массивам.

Образцы *U. florida* собраны на ПП 1 в кроне валежной осины (совместно с широко распространенными *Evernia prunastri* (L.) Ach. и *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl.) и ПП 2 на отпаде веток ели (совместно с *E. prunastri*, *H. physodes*, *Parmelia sulcata* Taylor, *Platismatia glauca* (L.) W.L. Culb. et C.F. Culb., *Usnea dasopoga* (Ach.) Nyl., *U. subfloridana* Stirt.). Образцы имеют хорошо развитые апотеции, следовательно, обитающая в кронах хвойных и лиственных деревьев популяция вида сохраняется и успешно возобновляется в старовозрастных малонарушенных лесах заповедных частей НП Смоленское Поозерье. Отметим, что Смоленская область – единственный регион Центральной России, где встречается *U. florida*, причем, уже на протяжении более полувека. По нашему мнению, данный вид является индикатором биологически ценных лесных ландшафтов в подзоне хвойно-широколиственных лесов Центральной России [10].

Находки *L. pulmonaria* и *U. florida* в заповедных частях НП «Смоленское Поозерье» свидетельствуют о правильности функционального зонирования территории, важны для активно ведущейся в настоящее время подготовки следующего издания Красной книги Российской Федерации и очередного издания Красной книги Смоленской области. Для оценки современного состояния популяций *L. pulmonaria* и *U. florida*, а также более тщательного изучения лишенобиоты необходимы дополнительные лихенологические исследования в заповедных частях НП.

Благодарности. Авторы благодарны администрации и сотрудникам Национального парка «Смоленское Поозерье» за помощь в организации и содействии исследованиям. Экспедиционные работы проведены в рамках проекта РНФ № 21-74-20171 («Индикаторы агрогенного этапа развития лесной территории»).

Список литературы

1. Шкалик В. А., Ерашов М. А., Борисовская И. А. Особо охраняемые природные территории Смоленской области. Смоленск: Универсум, 2005. 464 с.
2. Лесохозяйственный регламент национального парка «Смоленское Поозерье». Москва, 2015. 190 с.
3. Мучник Е.Э., Тихонова Е. В. Дополнения к лишенофлоре Смоленской области // Бот. журн. 2020. Т. 105, №8. С. 807–815. DOI: 10.31857/S0006813620080104
4. Красная книга Российской Федерации (Растения и грибы) / Отв. ред. Л. И. Бардунов, В. С. Новиков. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. 855 с.
5. Перечень (список) видов грибов, лишайников и растений, занесенных в Красную книгу Смоленской области (по состоянию на 1 марта 2012 г.) <https://les.admin-smolensk.ru/files/295/griby-zaneseny-v-krasnuyu.pdf> (дата обращения: 26.03.2020)
6. Бязров Л. Г. Синузии эпифитных лишайников некоторых типов лесных биогеоценозов Смоленской области // Бюл. Моск. о-ва испытателей природы. Отд. Биол. 1969. Вып. 74. №6. С. 115–124.
7. Бязров Л. Г., Голубкова Н. С. Редкие и интересные виды лишайников, новые для Смоленской области // Новости сист. низш. раст. 1967. Т. 4. С. 300–305.
8. Scheidegger C., Goward T. Monitoring lichens for conservation: red lists and conservation action plans // In: Monitoring with Lichens / P. L. Nimis, C. Scheidegger, P. A. Wolseley (eds.). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002. P. 163–181.
9. Гимельбрант Д. Е., Кузнецова Е. С. Лишайники // Выявление и обследование биологически ценных лесов на Северо-Западе Европейской части России: учеб. пособие. Т. 2. Пособие по определению видов, используемых при обследовании на уровне выделов. СПб., 2009. С. 93–138.
10. Мучник Е.Э. Лишайники как индикаторы состояния лесных экосистем центра Европейской России // Лесотехнический журнал. 2015. Т. 5. №3(19). С. 65–76. DOI: 10.12737/14154
11. Нотов А.А., Гимельбрант Д.Е., Урбанавичюс Г.П. Аннотированный список лишенофлоры Тверской области. Тверь: Твер. гос. ун-т, 2011. 124 с.

ЦЕНОПОПУЛЯЦИЯ ЦЕТРАРИИ ИСЛАНДСКОЙ *CESTRARIA ISLANDICA* НА ТЕРРИТОРИИ ЩУКИНСКОГО ПОЛУОСТРОВА (ПРИРОДНО-ИСТОРИЧЕСКИЙ ПАРК «МОСКВОРЕЦКИЙ», Г.МОСКВА): ДИНАМИКА И СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ

Пчелкин А.В.¹, Пчелкина Т.А.²

¹ Институт географии РАН, Москва, ² ЛЦ «Территория реки», Москва

Существование ценопопуляции эпигейного лишайника *Cetraria islandica* (L.) Ach. на территории «старой Москвы», т.е. в пределах Московской кольцевой автодороги - явление достаточно редкое. Напочвенная лишенобиота в Москве вообще развита довольно слабо, что связано, прежде всего, с биотопическими ограничениями, загрязнением и конкуренцией с травянистыми растениями. В условиях мегаполиса сильнейший антропогенный прессинг в виде вытаптывания и загрязнения не способствует развитию эпигейных лишайников. Значительна роль интенсивных строительных работ, проводимых без учета экологических характеристик территорий, в ограничении распространения эпигейных видов в Москве. Одно из немногих мест – небольшая ценопопуляция цетрарии исландской на Щукинском полуострове, который находится на границе между московскими районами Щукино и Строгино и выдается в большой Строгинский залив. Он входит в особо охраняемую природную территорию, является частью природно-исторического парка «Москворецкий», самого большого природного парка Москвы, где несколько особо охраняемых природных территорий (ООПТ) объединены долиной реки Москвы. Полуостров разделен заливом «Чистый» на северный и южный участки. Флора полуострова насчитывает более 300 видов и отличается большим числом особо охраняемых в Москве и Московской области видов растений. Здесь в начале 90-х годов во время инвентаризационных работ на небольшой площади (примерно в 1,2 га) было отмечено 9 эпигейных видов: *Cetraria islandica* (L.) Ach., *Cladonia arbuscula* (Wallr.) Flot., *Cladonia cariosa* (Ach.) Spreng., *Cladonia furcata* (Huds.) Schad., *Cladonia pyxidata* (L.) Hoffm., *Cladonia stellaris* (Opiz) Pouzar & Vezda, *Cladonia turgida* Hoffm., *Diploschistes muscorum* (Scop.) R.Sant.

in Hawksw., *Peltigera rufescens* (Weiss) Humb, большая часть которых занесена в Красную Книгу города Москвы. В это число не включены те представители р. *Cladonia*, также обнаруженные на этом участке, но только на комлях древесных пород. Из них 6 видов произрастали на небольшом пятчке площадью всего в 20-25 квадратных метров, в т.ч. и *Cetraria islandica*. Существованию ценопопуляции этого вида способствовала относительно слабая посещаемость полуострова в начале 90-х годов, а также природные условия: сосняки на песчаной почве. Ценопопуляция цетрарии насчитывала несколько десятков (примерно 80-90) талломов, которые отличались от талломов из фоновых районов более мелкими размерами. Последующие инвентаризации видового состава на этом участке показали постепенное снижение числа видов. Первым исчезнувшим видом был кустистый эпигейный лишайник *Cladonia stellaris*. В ходе работ по изучению криобиоза лишенизированных грибов в 2008 г. на Щукинском п-ве были собраны талломы *Cetraria islandica* (30 талломов) и *Cladonia furcata* и помещены в криобанку при отрицательной температуре -18 -- 24°C для сохранения их витальности при хранении в течение длительного времени (Honegger, 2003). Со временем число отдыхающих, посещавших Щукинский п-ов, только возросло, что крайне отрицательно сказывалось на разнообразии эпигейной лишенобиоты. На значительной территории мохово-лишайниковый покров был деградирован из-за того, что этот участок мотоциклисты выбрали для своих тренировок. К осени 2010 г. из эпигейных лишайников сохранилось только 3 вида: *Cladonia furcata*, *Cladonia pyxidata*, *Peltigera rufescens*, а площадка, где встречались *Cetraria islandica*, *Cladonia arbuscula*, *Cladonia cariosa*, *Cladonia stellaris*, *Cladonia turgida*, *Diploschistes muscorum*

была выбита практически полностью и перепажана мотоциклами и квадроциклами. Помимо лишайникового покрова произошла деградация и мохового покрова, с чем связано исчезновение эпибриофитного вида *Diploschistes muscorum*. Талломы цетрарии исландской, как и некоторых других видов, были уничтожены полностью. Таким образом, исходный оригинальный генетический материал ценопопуляции *Cetraria islandica* сохранился только в криобанке. Поэтому, для восстановления ценопопуляции этого вида и некоторых других видов в 2011 году на Щукинском п-ве были заложены 11 площадок для реинтродукции эпигейной лишайниобиоты (виды *Cetraria islandica* и *Cladonia furcata*). Реинтродукция осуществлялась размещением талломов эпигейных лишайников (Пчелкин, Пчелкина, 2016) на площадках с учетом принципа диверсификации: в условиях повышенного риска предпочтительнее большее число мелких реинтродукционных площадок, разбросанных на большой площади, чем одна крупная в одной точке. При этом использовались: 1) талломы крупных размеров в качестве контрольных; 2) мелкие фрагменты талломов в качестве посевного материала. Инвентаризация участка в мае 2014 г. показала, что байкеры превратили участок в настоящий мотополигон, а деградация растительного покрова только усилилась. Визуальный осмотр участка с помощью беспилотного летательного аппарата (квадрокоптера), эффективного для вычисления проективного покрытия лишайникового покрова при условии контрастности талломов на фоне субстрата (Пчелкина, Пчелкин, 2014; Пчелкин, Пчелкина, 2018), но и пригодного для оценки деградации почвы, подтвердил, что значительная площадь (более 90%) теперь полностью лишена растительности. Часть реинтродукционных площадок также оказались уничтоженными и лишайники на них не были обнаружены (пп.№ 2-5), однако на площадках №№ 1, 6-11, которые были заложены в сосняках вдали от тех мест, где катались байкеры, сохранились, как контрольные талломы *Cetraria islandica*, так и новые, образовавшиеся в результате роста измельченных фрагментов. Таким образом, локальная ценопопуляция *Cetraria islandica*, полностью уничтоженная байкерами, была восстановлена с использованием исходного генетического материала, сохраненного в криобанке. Всего к 2016 г. число талломов цетрарии исландской, восстановленных в результате реинтродукции, достигло 60-70 и можно было надеяться на длительное существование ценопопуляции *Cetraria islandica* на Щукинском полуострове в течение длительного времени. Материал из криобанка был использован практически полностью. В апреле 2022 года, когда травяной покров еще не был развит, нами было проведено обследование участков реинтродукции цетрарии исландской на Щукинском полуострове. Было обнаружено, что рядом с территорией, где расположены площадки №№ 1 и 6-11 был осуществлен ремонт газопровода. При этом строителями раскопан участок длиной около 800 м и шириной до 50 метров, на котором весь растительный покров был полностью срыт. К сожалению, территория ремонта прошла именно по реинтродукционным площадкам. Во время инвентаризации территории весной 2022 года были отме-

чены лишь единичные талломы цетрарии, общим числом 4 штуки, которые произрастают возле небольших сосен. И хотя формально *Cetraria islandica* на Щукинском полуострове сохранилась, но немногочисленность талломов делает существование ценопопуляции этого вида, включенного в Красную книгу Москвы, крайне уязвимой, а исследования по реинтродукции ввиду отсутствия достаточного количества исходного генетического материала, возможны лишь с помощью талломов, собранных в других районах, максимально близких по климатическим и цено-тическим условиям, а также и по уровню содержания поллютантов. Очевидно, для сбора реинтродукционного материала наиболее перспективны участки, где цетрария исландская произрастает в условиях заметного антропогенного воздействия, т.е. частично адаптированная к загрязнению, которые не относятся к особо охраняемым природным территориям, а также те, где намечено строительство и где этот вид будет уничтожен при хозяйственном освоении (прокладка дорог, строительство зданий и т.д.). Наилучшие результаты могут быть получены при минимальном промежутке времени между сбором материала и посевом для реинтродукции, в случае же невозможности произвести реинтродукцию рекомендуется хранение собранных талломов в состоянии криобиоза при отрицательной температуре. Этот, казалось бы, частный случай с цетрарией исландской, затрагивает проблему сохранения и восстановления биологического разнообразия в условиях интенсивного антропогенного прессинга, редких видов лишайников, включенных в Красные книги различного ранга.

Инвентаризация Щукинского полуостровов в 2022 г. выполнена по теме госзадания института географии РАН № 0148-2019-0007 FMGE-2019-0007 AAA-A-19-119021990093-8.

Список литературы

1. Honegger, R. The Impact of Different Long-Term Storage Conditions on the Viability of Lichen-Forming Ascomycetes and their Green Algal Photobiont, *Trebouxia* spp. // *Plant Biology*. – 2003. – V. 5. – Issue 3. – P. 324-330.
2. Пчелкин А.В., Пчелкина Т.А. Опыт сохранения и восстановления лекарственных лишайнизированных грибов *Cetraria islandica* и *Evernia prunastri* методом трансплантации // *Успехи медицинской микологии*. – 2016. – Т.16. – С. 285-286.
3. Пчелкина Т.А., Пчелкин А.В. Малобюджетные методы аэрофотосъемки в лишайнологических исследованиях // *Вестник Тверского государственного университета*. Серия: Биология и экология, издательство Твер. гос. ун-т (Тверь). – 2014. – Т. 25. – № 3. – С. 107-114.
4. Пчелкин А.В., Пчелкина Т.А. Методические аспекты и опыт использования бюджетных БПЛА в аэрофотосъемке // *Материалы Всероссийской научно-практической конференции ПРИМЕНЕНИЕ БЕСПИЛОТНЫХ ЛЕТАТЕЛЬНЫХ АППАРАТОВ В ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ*. – 2018. – Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН. – Иркутск. – С. 96-99.

**ДОПОЛНЕНИЕ В КРАСНУЮ КНИГУ УЛЬЯНОВСКОЙ ОБЛАСТИ:
ЛИШАЙНИК *LECANIA ALEXANDRAE* TOMIN VAR. *SPERKII* OXNER**

Шустов М.В.

Московский государственный университет геодезии и картографии

Высокие темпы исчезновения видов на Земле придают особую актуальность работам по охране редких и исчезающих видов, и, в частности, исследованиям, посвященным занесению данных видов в региональные Красные книги (Розенберг, Рянский, Шустов, 2002). В настоящее время 32 вида лишайников, ареалы которых представляют значительный научный интерес, и сохранение которых является важнейшей общественной и государственной задачей, занесены в Красную книгу Ульяновской области (Шустов, 2003, 2004, 2014, 2017), однако, лишенобиота региона содержит виды, нуждающиеся в занесении в Красную книгу региона. Один из них – неморальный голарктический лишайник *L. alexandrae* Tomin var. *sperkii* Oxner, обладающий восточно-европейским типом ареала, являющийся климатическим реликтом голоцена (Шустов, 2006). Ниже приведен полный видовой очерк *L. alexandrae* var. *sperkii*.

Лекания александра - *Lecania alexandrae* Tomin

Семейство Рамалиновые - *Ramalinaceae* C.Agardh

Статус. Категория 1/Г. Крайне редкий вид, со стабильной численностью.

Описание. Слоевище в виде более или менее резко отграниченных округлых пятен, крупнобугорчатое, грязно-серое, до темно-серого, по периферии с широкой, обычно резко выраженной, более светлой каймой. Апотеции до 1.2 – 2.5 мм в диаметре, скученные в центре слоевища округлые или иногда неправильной формы. Диск апотециев сначала вогнутый, красновато-коричневый, голый или с беловатым налетом, с тонким, хорошо заметным, слегка зарубчатым серым краем, позднее очень выпуклый, темно-коричневый, с почти исчезающим краем. Парафизы свободные, членистые, на верхушках коричнево-буроватые, с головчато утолщенным верхним члеником, до 7.5 м в диаметре. Сумки с 8 членистыми спорами, 14 – 24 × 4.5 – 7 м. Пикноконидии не обнаружены; слоевище от К и КС не изменяется; гимениальный слой от J синее.

Var. sperkii Oxner – Апотеции до 1.2 мм в диаметре, с диском, покрытом густой сизой поволокой.

Распространение. Неморальный голарктический вид с восточноевропейским типом ареала, произрастающий на коре деревьев лиственных пород, на территории Смоленской и Воронежской областей, встречается на веточках кустарников, одревесневших побегах и растительных остатках в степях, приуроченных к вершинам останцев на территории Саратовской, Самарской и Ульяновской областей России, Киевской, Харьковской, Херсонской и Черновицкой областей Украины.

В Ульяновской области произрастает на веточках кустарников, одревесневших побегах и растительных остатках в степях, приуроченных к вершинам останцев, на тер-

ритории памятника природы «Суруловская лесостепь» в окрестностях села Суруловка Новоспасского района.

Численность и тенденции её изменения. Единичные экземпляры. Численность стабильна.

Особенности биологии и экологии. Накипной однообразно-накипной зернисто-бородавчатый эпифит, произрастает на веточках кустарников, одревесневших побегах и растительных остатках.

Лимитирующие факторы. Уничтожение местообитаний, разработка карьеров, выпас скота.

Принятые меры охраны. Охраняется на территории памятника природы «Суруловская лесостепь» в окрестностях села Суруловка Новоспасского района Ульяновской области.

Рекомендации по сохранению вида в естественных условиях. Сохранение известных местообитаний на территории памятника природы «Суруловская лесостепь» в окрестностях села Суруловка Новоспасского района Ульяновской области.

Источники информации. Макаревич, 1971, Шустов, 2003, 2004, 2006, 2014, 2017.

Список литературы

1. Розенберг Г.С., Рянский Ф.Н., Шустов М.В. Краткий курс современной экологии: Учебное пособие. Ульяновск: УлГТУ, 2002. 228 с.
2. Шустов М.В. Аннотированный список лишайников Приволжской возвышенности // Растительный мир Среднего Поволжья. Ульяновск: УлГТУ, 2003. С. 74 - 117.
3. Шустов М.В. Аннотированный список лишайников Приволжской возвышенности // Бюллетень Самарская Лука, 2004. № 14. С. 34 – 76.
4. Шустов М.В. Лишайники в Красных книгах Самарской и Ульяновской областей // Бюллетень Главного ботанического сада, 2014. Вып. 200, № 1. С. 39 – 42.
5. Шустов М.В. Реликтовые элементы лишенофлоры Приволжской возвышенности // Известия Самарского научного центра РАН, 2006. Т. 8, № 2. С. 480 – 503.
6. Шустов М.В. Очерки лишайников, занесенных в Красную книгу Ульяновской области // Известия Самарского научного центра РАН. 2017. Т. 19, № 2 (2). С. 374-392.
7. Макаревич М.Ф. Род *Lecania* // Определитель лишайников СССР. Вып. 1. Пертузариевые, Лекановые, Пармелиевые. Л: Наука. 1971. С. 255 - 270.

К ИЗУЧЕНИЮ ЛИШАЙНИКОВ БОЛОТ САМОТЛОРСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ (ЗАПАДНАЯ СИБИРЬ, ХМАО-ЮГРА)

Толпышева Т.Ю.¹, Шишконокова Е.А.²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

²Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва

Самотлорское нефтяное месторождение, расположенное в Нижневартовском районе ХМАО-Югры в районе озера Самотлор – самое крупное на территории Российской Федерации, площадь лицензионного участка составляет 2516,9 кв. км. Оно было открыто в 1965 г., промышленная разработка началась в 1969 г. Одной из природных особенностей этой территории является ее высокая заболоченность – болотами занято до 80% площади месторождения, они доминируют в его южной части. Согласно ботаническому районированию Самотлорское месторождение расположено в подзоне средней тайги (Ильина и др., 1985). Эта часть Западно-Сибирской низменности входит в климатическую зону избыточного увлажнения и болотную зону выпуклых олиготрофных болот (Лисс, Березина, 1981).

До промышленного освоения основная доля ландшафтов месторождения, в первую очередь на водоразделах, приходилась на олиготрофные болота. Относительно преобладали грядово-мочажинные комплексные болота (ГМК), в том числе с озерами (ГМОК), в меньшей степени здесь были распространены сосново-кустарничково-сфагновые (рямы) и осоково-пушицево-сфагновые сообщества.

На ненарушенных олиготрофных болотах Самотлорского месторождения эпигейные лишайники чаще всего приурочены к межкочечным понижениям на рямах и грядах ГМК, ГМКО. Покрытие, формируемое эпигейными лишайниками в составе мохово-лишайникового яруса, обычно невелико и составляет 1-5%. Распространение эпифитных лишайников ограничено болотными кустарничками и немногочисленными видами деревьев – наиболее распространена сосна обыкновенная, несколько реже отмечаются кедр сибирский и береза пушистая.

За 50 лет добычи значительная часть олиготрофных болотных массивов, расположенных на территории Самотлорского месторождения, оказалась затронута хозяйственной деятельностью, проявившейся в распространении таких процессов как гидроморфизация, бедлендизация (высокая степень нефтезагрязнения, сопровождающаяся появлением битумных корок-кир), антропогенное засоление, эвтрофикация (умеренный привнос дополнительных питательных веществ). Их проявления во многом способствовали возникновению специфичных техногенно-преобразованных болотных ландшафтов (Аветов, Шишконокова, 2019) и, в конечном итоге, оказали влияние на видовой

состав растительности месторождения, в том числе на популяцию лишайников.

К негативным процессам, резко снижающим присутствие лишайников на территориях нефтепромыслов, можно отнести гидроморфизацию, бедлендизацию и сильное засоление почв. Так, создание коридоров коммуникаций в условиях плоского рельефа способствует масштабному подтоплению значительных площадей, вызывающему массовую гибель как эпигейных видов лишайников, так и деревьев, являющихся субстратом для эпифитов. Сильное нефтезагрязнение и техногенное засоление почв часто приводят к уничтожению всех компонентов нативных фитоценозов. В то же время последствия эвтрофикации олиготрофных торфяных почв носят неоднозначный характер. В ряде случаев умеренная эвтрофикация способствует увеличению участия лишайников в напочвенном покрове. Разрастание лишайников также отмечено на осушенных вследствие перераспределения стока участках болот и на созданных на болотах насыпях и обваловках.

Несмотря на столь существенные изменения растительного покрова, произошедшие на территории Самотлорского месторождения, исследований флоры лишайников ранее не проводилось. Наша работа ставит целью восполнить этот пробел.

Лишайники собирали маршрутным методом с почвы, деревьев и кустарников на участках, до освоения месторождения относящихся к олиготрофным болотным массивам. Из древесных растений обследованы: сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), кедр (*Pinus sibirica* Du Tour), березы (*Betula nana* L., *Betula pubescens* Ehrh.), ивы (*Salix caprea* L., *S. cinerea* L., *S. pentandra* L.), осина (*Populus tremula* L.), багульник (*Ledum palustre* L.), мирт болотный (*Chamaedaphne calculata* (L.) Moench).

Камеральная обработка лишайников проводилась с помощью стандартных лихенологических методов на кафедре микологии и альгологии МГУ им. М.В. Ломоносова. Названия таксонов приводятся по сводке *index fungorum*, систематическое положение родов лишайников по Tehler, Wedin (2010). Всего зарегистрировано 75 видов лишайников из 29 родов и 10 семейств. Несмотря на относительно большое количество родов, большинство из них представлено 1 видом, исключение *p. Cladonia* – 31 вид (таблица).

Таблица. Таксономическая структура лишайнобиоты

порядок	семейство	род	число видов
Acarosporales	Candelariaceae	Candelariella	2
Pertusariales	Icmadophilaceae	Icmadophila	1
Lecanorales	Lecanoraceae	Lecanora	2
	Cladoniaceae	Cladonia	31
	Parmeliaceae	Bryoria	4
		Cetraria	3
		Evernia	1
		Hypogymnia	1
		Imschaugia	1
		Melanochalea	2
		Parmelia	1
		Parmeliopsis	2
		Usnea	2
		Vulpicida	1
	Mycoblastaceae	Mycoblastus	1
	Ramalinaceae	Bacidia	1
		Biatora	1
		Japewia	1
		Lecania	1
		Ramalina	1
	Physciaceae	Amandinea	1
		Buellia	1
		Phaeophyscia	1
		Physcia	2
		Rinodia	6
	Teloschistaceae	Athalia	1
		Caloplaca	1
	Lecideaceae	Bryobilimbia	1
		Lecidea	1

Большинство видов характерно для территории Западной Сибири (Седельникова, 2017), включая территорию ХМАО-Югры (Filipova et al., 2020). Все выявленные в районе нефтяного месторождения виды одинаково успешно развиваются на болотах и в лесах, расположенных на территории ХМАО-Югры. Исключение – *Bryoria smithii*. Этот вид раньше не был указан для ХМАО-Югры и впервые найден на территории Западной Сибири.

По форме роста преобладают кустистые лишайники – 41 вид, на втором месте накипные – 22 вида, в то время как листоватых всего 12 видов.

Эпигейные лишайники в районе Самотлора обычно тяготеют к почвам с поверхностным органометным (торфяным) естественным или насыпным (на рекультивированных участках) слоем. Среди эпигейных лишайников преобладают виды (31) *p. Cladonia*. Способность некоторых видов *p. Cladonia* расти в антропогенно измененных местообитаниях, включая нефтешламмовые амбары, уже отмечалась исследователями (Трасс, 1978; Ahti, Stenroos, 2013; Шишконакова, Толпышева, 2018).

На техногенно преобразованных торфяниках влияние на состав и степень развития лишайникового покрова оказывают многие факторы – характер и масштабы нарушения, его кратность, время, прошедшее после воздействия, и др. Часть болотных участков Самотлорского месторождения, характеризующихся невысокой степенью нарушенности, в настоящее время оставлена для самовосстановления растительности. Здесь, на дренированных сегментах нами отмечено постепенное восстановление эпигейных лишайников. В то же время до сих пор значительны площади нарушенных болот, отличающихся высокими концентрациями загрязняющих веществ в почвах. Часть таких участков прошла стадию рекультивации, причем некоторые из них

были рекультивированы неоднократно. В таких местообитаниях восстановление лишайников затруднено.

На этапе обустройства кустового основания, бурения, последующей рекультивации нарушенной площадки деревьев и кустарники, находящиеся непосредственно в зоне отвода, удаляют, поэтому появление эпифитных лишайников на этих участках возможно только после прекращения добычи нефти древесной и кустарниковой растительности, на которую в дальнейшем ветром заносятся propagules лишайников. При этом деревья и кустарники должны достигнуть определенного возраста, чтобы на них поселились лишайники (Толпышева, Шишконакова, 2020). Несмотря на такие ограничения, видовой состав эпифитов намного разнообразнее, чем эпигейных лишайников и превосходит их как по количеству видов, так и по количеству родов (эпифиты – 40 видов, 25 родов; эпигейные – 35 видов, 4 рода). Среди эпифитов преобладают лишайники с накипной формой роста (20 видов), но наибольшее количество субстратов освоили лишайники с листоватой формой роста, широко распространенные в бореальной зоне России: *Melanohalea olivacea*, *Parmelia sulcata*, *Cetraria saepincola*, *Evernia mesomorpha*, *Vulpicida pinastri*.

Продолжение исследований в районе Самотлора несомненно расширит список видов лишайников, особенно в местах многолетней консерваций скважин.

Работа выполнена в рамках научного проекта государственного задания МГУ № 121032300081-7

Список литературы

- Ильина И.С. Растительный покров Западно-Сибирской равнины / Ильина И.С., Лапшина Е.И., Лавренко Н.Н. и др. – Новосибирск: Наука, 1985. - 250 с.

2. Лисс О.Л., Березина Н.А. Болота Западной Сибири – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1981. – 204 с.
3. Аветов Н.А., Шишконокова Е.А. Типология техногенно-преобразованных болот таёжной зоны Западной Сибири // В сборнике: Материалы конференции “Х Галкинские Чтения”. 2019. С. 9-11.
4. Tehler A., Wedin M. Systematics of lichenized fungi. – In Lichen Biology /Nash III T.H. (ed.) - Cambridge: Univ. Press, 2010. - P. 338-354.
5. Седелникова Н.В. Видовое разнообразие лишенобиоты Западной Сибири и оценка участия видов лишайников в основных ее горных и равнинных фитоценозах. - Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2017. – 611 с.
6. Filippova N., Arefyev S., Bulyonkova T., et al., (2020) Fungal literature records database of the Northern West Siberia (Russia). Version 1.9. Yurga State University Biological Collection (YSU BC). // <https://doi.org/10.15468/hfie31> accessed via GBIF.org on 2020-07-22
7. Трасс Х.Х. Cladonia //Определитель Лишайников СССР. Л.: Наука, 1978, С. 8-69.
8. Ahti T., Stenroos S. 2013. Cladonia. – In Ahti T., Stenroos S., Moberg R. (eds.), Nordic Lichen Flora 5: 8-86.
9. Шишконокова Е.А., Толпышева Т.Ю. Развитие лишайников на рекультивированных нефтешламных амбарах (ХМАО-Югра) //Проблемы лесной фитопатологии и микологии: Материалы X международной конференции, посвященной 80-летию со дня рождения Виталия Ивановича Крутова, Петрозаводск, 15-19 октября 2018 г. Петрозаводск, 2018. С.231.
10. Толпышева Т.Ю., Шишконокова Е.А. Лишайники рекультивируемых нефтешламных амбаров (Ханты-Мансийский автономный округ - Югра, Западная Сибирь) //Растительный мир Азиатской России. 2020. № 1(37) С. 6-10.

ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛИХЕНОБИОТЫ ХВОЙНЫХ ЛЕСОВ БЕЛАРУСИ

Яцына, А.П.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
Институт экспериментальной ботаники, Минск, Беларусь

Сравнительно-флористический анализ любого региона является неотъемлемой частью изучения флоры, в первую очередь он показывает флористический состав отдельных таксономических структур (порядки, семейства, рода). В результате сравнения с общим флористическим составом республики, можно выявить специфичность таксономического состава любой лесной формации, определенной территории и т.д., отражающий разнообразие фитоценологических, географических и экологических условий страны [1]. На основании собственных сборов и гербарного материала других коллекторов обобщена информация о биологическом разнообразии лишайников и близкородственных грибов хвойных лесов республики. Хвойные леса в Беларуси представлены сосняками и ельниками.

В ходе инвентаризации собственных сборов и гербарного материала различных коллекторов в хвойных лесах Беларуси выявлен 361 вид, из них 346 видов лишайников, 10 видов лишенизированных видов грибов: *Chaenothecopsis debilis*, *C. pusilla*, *C. rubescens*, *C. savonica*, *Microcalicium disseminatum*, *Mycocalicium subtile*, *Phaeocalicium polyporaenum*, *Sarea difformis*, *S. resiniae*, *Stenocybe pullatula*, 5 видов лишенофильных грибов: *Biatoropsis usnearum*, *Chaenothecopsis consociata*, *Clypeosocum hycopocomycis* и *Phaeosporobolus usneae*, относящихся к 2 отделам, 7 классам, 24 порядками, 56 семействам и 131 родам. Наибольшее количество таксонов отмечено в еловых лесах – 289 видов, в сосновых лесах – 271 вид. Лишенобиота хвойных лесов принадлежит к двум отделам: *Ascomycota*, содержащему 359 видов лишайников (99,4% общего числа видов) и *Basidiomycota* – 2 вида (0,6%), входящие в состав царства *Fungi*. Подавляющее большинство отмеченных видов принадлежит классу *Lecanoromycetes*, который содержит 17 порядков, 45 семейств, 107 родов и 312 видов лишайников (98,7% общего числа видов). Незначительно в лишенобиоте хвойных лесов представлены 6 других классов: *Arthoniomycetes* – 1 порядок, 5 семейств, 11 родов, 18 видов (4,9% общего числа видов), *Agaricomycetes* – 1 порядок, 1 семейство, 1 род и 1 вид – *Lichenomphalia umbellifera* (0,27% общего числа видов), *Coniocybomycetes* – 1 порядок, 1 семейство, 2 рода и 15 видов (4,15% обще-

го числа видов), *Dothideomycetes* – 1 порядок, 3 семейства, 4 рода и 4 вида (1,1%), *Eurotiomycetes* – 2 порядка, 2 семейства, 5 родов и 11 видов (3%), *Tremellomycetes* – 1 порядок, 1 семейство, 1 род и 1 вид – *Biatoropsis usnearum* (0,27% общего числа видов). Флористический спектр лишенобиоты хвойных лесов показывает, что в состав лишенобиоты входят 24 порядка: *Lecanorales* – 184 вида (50,9% общего числа видов), *Caliciales* – 28 видов (7,7%), *Peltigerales* – 21 (5,8%), *Arthoniales* – 17 видов (4,7% общего числа), *Coniocybales* – 15 (4,1%), *Pertusariales* – 14 (3,8%), *Ostropales* и *Trapeliales* – по 12 видов соответственно (3,3%), *Teloschistales* – 9 (2,5%), *Mycocaliciales* – 8 (2,2%), *Candelariales* – 7 (1,9%), *Lecideales* – 4 (1,1%), *Pyrenulales* – 3 (0,8%), по 2 вида содержат следующие порядки *Monoblastiales*, *Rhizocarpaceae*, *Umbilicariales* по 1 виду соответственно *Acarosporales*, *Agaricales*, *Arctomiales*, *Baeomycetales*, *Sarrameanales*, *Thelocarpaceae*, *Tremellales*, *Vezeaeales*.

Состав лишенобиоты хвойных лесов республики насчитывает 56 семейств, среднее число видов в семействе составляет 15 видов. Уровнем выше среднего значения 15 видов характеризуются 8 семейств. Наибольшее количество видов, отмеченных в хвойных лесах, характерно для семейства *Parmeliaceae*, которое содержит 57 видов лишайников. Во флоре Беларуси семейство содержит 79 видов и принадлежит к 29 родам [1]. Семейство *Cladoniaceae* как во флоре Беларуси, так и в хвойных лесах содержит одинаковое число родов – 2 (*Cladonia*, *Pycnothelia*). Количество видов в роде *Cladonia* колеблется в значительных пределах. В хвойных лесах отмечено 43 вида, в то время как в лишенобиоте республики известно 60 видов. Такие виды лишайников как *Cladonia chlorophaea*, *C. conista*, *C. cryptochlorophaea*, *C. homosekikaica*, *C. merochlorophaea*, *C. monomorpha* и *C. novochlorophaea* в статье относятся к одному таксону – *Cladonia chlorophaea* s. lat. В гербарных коллекциях лаборатории микологии (MSK-L) и на кафедре ботаники БГУ отсутствуют гербарные образцы вышеперечисленных видов лишайников, обнаруженных в результате ревизии и опубликованные в статьях А.Г. Цурикова. В коллекциях, на конвертах не приводится качественный состав лишай-

никовых кислот, выявленных в результате тонкослойной хроматографии и нет каких-либо этикеток, указывающих на тот или иной вид.

Семейство Ramalinaceae во флоре Беларуси содержит 10 родов и представлено 63 видами. Лишайники данного семейства содержат преимущественно неморальные виды, которые характерны для широколиственных лесов республики. Особое место в лишенобиоте республики занимает семейство Physciaceae, наибольшее разнообразие родов и видов связано с усадебными парками и урбанизированными территориями в республике, к таким территориям можно отнести парки отдыха, молодые посадки вдоль дорог, скверы в населенных пунктах и т.д. [2]. Семейство Pilosarcaceae содержит практически одинаковое число видов как во флоре Беларуси – 21 вид, так и в хвойных лесах республики – 19 видов. Большинство видов семейства встречаются в хвойных лесах республики, произрастают на различных субстратах: *Fellhanera bouteillei* на ветках и иголках *Picea abies*, *Fellhaneropsis myrtillicola*, *Fellhanera subtilis*, *F. viridisoediata* на ветках черники. В хвойных лесах лишайники рода *Micarea* встречаются на коре и на древесине *Pinus sylvestris*, реже – на мелколиственных деревьях.

Следует отдельно отметить во флоре хвойных лесов высший ранг порошкоплодных лишайников семейства *Coniocybaeae* – 15 видов из двух родов: *Chaenotheca* и *Sclerophora*. Многие виды лишайников приурочены к старовозрастным хвойным лесам и, кроме того, являются индикаторами длительно существующих ненарушенных лесных сообществ. К числу семейств, наиболее широко представленных бореальными видами и составляющих ядро исследуемой лишенобиоты, относятся *Cladoniaceae*, *Parmeliaceae*, *Peltigeraceae* и *Conyocybaceae*. С другой стороны, семейства *Physciaceae*, *Lecanoraceae* и *Ramalinaceae* представлены таксонами, отражающими неморальные черты лишенобиоты хвойных лесов. Кроме того, в лишенобиоту хвойных лесов входят такие семейства как *Acarosporaceae*, *Peltigeraceae*, *Stereocaulaceae*, *Trapeliaceae*. Лишайники из перечисленных семейств обладают ксероморфными чертами, данные виды в хвойных лесах встречаются на почве, гумусе, растительных остатках, реже на древесине и валунах в открытых, хорошо прогреваемых местах.

Лишенобиота хвойных лесов содержит 131 род лишайников и близкородственных грибов. Среднее число видов в роде составляет 2,7. Уровнем видового разнообразия выше среднего показателя обладает 38 родов (29% общего числа родов), объединяющих 248 видов, что составляет 68,7% общего числа видов. На долю остальных 93 родов приходится 113 видов, что составляет 31,1% общего числа видов, из них двумя видами – 20 родов, одним видом – 73 родов. Преобладающим по числу видов является род *Cladonia* содержащий 43 вида. Род *Cladonia* занимает ведущее положение в лишенобиотах различных регионов обоих полушарий и встречается в самых разнообразных биотопах, преимущественно в сосновых лесах [1]. Большинство представителей рода *Chaenotheca*, представленного в хвойных лесах 12 видами, приурочены к лесной зоне Голарктики. Они характеризуются широким распространением в различных подзонах Голарктики. Высокое положение родов *Peltigera*, *Micarea* и *Usnea* указывает на бореальный характер лишенобиоты хвойных лесов республики, в то время как роды *Lecanora*, *Ramalina*, *Physcia* и *Arthonia* характеризуются неморальным географическим элементом. Напротив, такие роды как *Physcia*, *Candelariella*, *Physconia*, *Ramalina*, *Melanohalea* и *Phaeophyscia* подчеркивают принадлежность лишенобиоты хвойных лесов к южному варианту умеренных лесных

лихенобиот Голарктики. Наличие этих таксонов в изучаемой лишенобиоте связано с видовым составом широколиственных и мелколиственных древесных насаждений в еловых лесах Беларуси.

В результате собственных сборов автора и инвентаризации гербарного материала для хвойных лесов республики впервые приводятся 94 вида лишайников и близкородственных грибов. Для сосновых лесов Беларуси впервые приводятся 46 видов лишайников и близкородственных грибов, которые не приводятся в статье автора публикации [3]. К таким видам относятся: *Absconditella delutula*, *A. lignicola*, *A. sphagnorum*, *Biatora carneoalbida*, *Biatoropsis usnearum*, *Candelaria pacifica*, *Cetrelia monachorum*, *C. olivetorum*, *Chaenotheca brachypoda*, *Chaenothecopsis consociata*, *C. rubescens*, *C. savonica*, *Clypeococcum hypocenomyces*, *Fellhanera bouteillei*, *Gregorella humida*, *Lecanora conizaeoides*, *Lepraria eburnea*, *L. elobata*, *L. finkii*, *L. rigidula*, *L. vouauxii*, *Melanohalea septentrionalis*, *Micarea botryoides*, *M. byssacea*, *M. denigrata*, *M. elachista*, *M. nitschkeana*, *M. pseudomicrococca*, *Ochrolechia alboflavescens*, *O. androgyna*, *O. microstictoides*, *Parmelia barroanae*, *Peltigera extenuata*, *P. membranacea*, *P. neckeri*, *P. praetextata*, *Phaeocalicium polyporaenum*, *Phaeophyscia pusilloides*, *Phaeosporobolus usneae*, *Pseudoschismatomma rufescens*, *Pycnora praestabilis*, *Scoliciosporum umbrinum*, *Scytinium lichenoides*, *Usnea barbata*, *U. florida* и *U. glabrata*.

В хвойных лесах впервые указывается 61 вид лишайников и близкородственных грибов, ниже перечисленные виды, отсутствуют в монографии П.Н. Белого «Лишайники еловых лесов Беларуси» [4]: *Absconditella lignicola*, *Anisomeridium polypori*, *Arthonia arthonioides*, *A. vinosa*, *Arthothelium ruanum*, *Bacidia igniarii*, *B. subincompta*, *Bacidina inundata*, *Bactrospora dryina*, *Biatora efflorescens*, *B. epixanthoides*, *Biatoridium monasteriense*, *Calicium parvum*, *C. salicinum*, *Candelaria pacifica*, *Chaenotheca gracillima*, *Chaenothecopsis consociata*, *C. debilis*, *C. pusilla*, *C. rubescens*, *C. savonica*, *Cliostomum leprosum*, *Fellhanera gyrophorica*, *F. viridisoediata*, *Fellhaneropsis myrtillicola*, *Gyalecta ulmi*, *Inoderma byssaceum*, *Lecanactis abietina*, *Lecanactis abietina*, *Lecanora glabrata*, *Lecidea helvola*, *L. nylanderii*, *L. turgidula*, *Lepraria eburnea*, *Leptogium saturninum*, *Lopadium disciforme*, *Micarea byssacea*, *M. denigrata*, *M. elachista*, *M. microareolata*, *M. peliocarpa*, *M. soralifera*, *M. tomentosa*, *Ochrolechia alboflavescens*, *O. bahusiensis*, *Parmelia barroanae*, *Peltigera degenii*, *P. ernstiae*, *Phaeosporobolus usneae*, *Psilolechia clavulifera*, *Pyrenula nitida*, *Reichlingia leopoldii*, *Ropalospora viridis*, *Sclerophora amabilis*, *S. coniophaea*, *Scytinium lichenoides*, *Segestria carpinea*, *Stenocybe pullatula*, *Thelocarpon lichenicola*, *Trapeliopsis pseudogranulosa* и *Zwackhia viridis*.

Список литературы

1. Флора Беларуси. Лишайники. Т. 1. / А. П. Яцына [и др.]; под общ. ред. академика В. И. Парфенова; Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т эксперим. ботаники им. В. Ф. Купревича. – Минск : Беларуская навука, 2019. – 341 с., [8] л. цв. ил.
2. Яцына, А. П. Лишенобиота усадебных парков Минской области / А. П. Яцына ; науч. ред. Е. Э. Мучник ; Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т эксперим. ботаники им. В. Ф. Купревича. – Минск : Беларуская навука, 2021. – 181 с.
3. Яцына А.П. Аннотированный список лишайников сосновых лесов Беларуси // Особо охраняемые природные территории Беларуси. Исследования. 2013а. Вып. 8. С. 152–186.
4. Белый П.Н. Лишайники еловых лесов Беларуси. Минск: Беларуская навука, 2016. – 230 с.

Глава 7.

Взаимоотношения грибов, бактерий и растений. Микориза

doi: 10.14427/cmr.2022.ix.07

ЛЮБОПЫТНЫЙ ФЕНОМЕН ПИТАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОДОДНОГО КЛОПА *GRAPHOSOMA LINEATUM* МУХАМИ *EMPIS TESSELLATA*, ПОГИБШИМИ ОТ ПОРАЖЕНИЯ ЭНТОМОПАРАЗИТИЧЕСКИМ ГРИБОМ *ENTOMOPHTHORA MUSCAE*

Борисов Б.А.

ООО «АгроБиоТехнология», Москва

Entomophthora muscae (Cohn) Fresen. (*Entomophthoromycota: Entomophthorales*) - широко распространённый в мире энтомопаразитический гриб, трофически связанный с двукрылыми насекомыми из нескольких семейств подотряда короткоусых (*Diptera: Brahycera*) [1]; но накапливается всё больше данных, что это комплексный вид, включающий трудно различимые более узко специализированные виды [2, 3]. Среди хозяев *E. muscae s.l.* фигурируют и представители семейства *Empididae* [1], к которому относится толкунчик большой *Empis tessellata Fabricius* - один из наиболее обычных в первой половине лета видов луговых насекомых в средней полосе европейской части России.

По наблюдениям в окрестностях дер. Губино (N 55.4631 E 38.5921; Московская обл., Воскресенский район), во второй декаде июня 2022 г. имаго этого вида стали массово встречаться в открытых стациях (на просеке под высоковольтной линией, на полянах, обочинах сельских улиц и т. п.) в соцветиях различных зонтичных растений (сем. *Ariaceae*), особенно на купуре лесном *Anthriscus sylvestris (L.) Hoffm.* При этом фактически сразу стала наблюдаться гибель мух от поражения *E. muscae s.l.* (рис.1). О солидных масштабах эпизоотии можно судить по тому, что к 26.06 погибшие от грибной инфекции имаго *E. tessellata* встречались в округе на ≈60 % цветущих соцветий купыря по 1-5 экземпляров (на отдельных зонтиках - до 10-12), тогда как живые мухи отмечались к этому сроку уже в единичной численности. Схожая картина наблюдалась в эти же дни в ходе маршрутных исследований также в пойме Москвы-реки на Звенигородской биостанции МГУ (N 55.7030 E 36.7291; Одинцовский район) и в Раменском районе (N 55.5970 E 38.2380). Это свидетельствует, что эпизоотия носила явно не локальный характер. Поскольку стремительная вспышка грибной инфекции произошла не в сентябре - октябре, когда можно наблюдать классическую «осеннюю болезнь» комнатной мухи *Musca domestica L.* в результате поражения *E. muscae*, а столь рано, с первых дней вылупления имаго из пупариев, то скорее всего основное инфицирование *E. tessellata* имело место осенью (и/или) весной в прелой подстилке, где развиваются личинки мухи.

Но наиболее удивительным оказалось обнаружение в этой паразито-хозяинной системе третьего звена - щитника линейчатого *Graphosoma lineatum (L.) (Heteroptera: Pentatomidae)*. Имаго этого клопа после выхода из зимней диапаузы в подстилке на опушках лесов сперва питаются, высасывая соки из побегов самых разнообразных растений, но к середине июня, ко времени зацветания зонтичных, перемещаются на них; и здесь этот вид становится

практически ежегодно одним из доминирующих элементов энтомофауны, как и *E. tessellata*.

Хорошо известно, что в семействе клопов-щитников большинство видов - фитофаги (*G. lineatum* относится именно к таковым!), но есть и облигатные энтомофаги-хищники. Отдельные виды, например, щитник красноногий *Pentatoma rufipes (L.)*, связанный с древесно-кустарниковой растительностью, может также нападать на гусениц чешуекрылых (*Lepidoptera*) и высасывать из них гемолимфу, т. е. является фитозоофагом [4]. У коричнево-мраморного клопа *Halyomorpha halys (Stål)*, являющегося серьёзным вредителем сотен видов растений из разных семейств [5], нередки случаи каннибализма [6, 7]. Однако в мировой литературе не удалось найти указаний на некрофагию у каких-то видов клопов этого семейства.

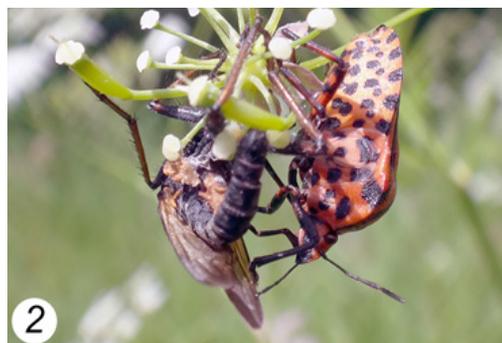
Именно это и довелось наблюдать автору у *G. lineatum*, причём в данном случае некрофагия оказалась очень специфической - многие ползающие по соцветиям зонтичных клопы периодически устремлялись к трупам погибших от энтомофтороза мух *E. tessellata*, протыкали их хоботком (иногда 2-4 раза в разных местах) и по несколько минут высасывали «соки» (рис.2), а потом возвращались к обычному растительному питанию. В то же время на сидящих рядом живых мух клопы не реагировали и не пытались их атаковать, как это характерно для хищных видов.

Для дальнейшего изучения было собрано 15 экз. имаго *G. lineatum*, заведомо питавшихся поражёнными мухами, и, соответственно, контактировавшими с инфекционными конидиями энтомопаразитического гриба на поверхности трупов. Эти клопы на 2 суток были помещены в садок с 4 зонтиками и 15 мёртвыми мухами на них (таким образом, было обеспечено продолжение контакта), а в дальнейшем зонтики купыря через 2-4 дня меняли на свежие. В итоге ни один из этих клопов не погиб от энтомофтороза; их отмирание было естественным в первой декаде июля после откладки яиц самками.

Для выяснения природы явления в окрестностях дер. Губино были отловлены также живые имаго *E. tessellata*, которые были умерщвлены заморозкой, затем на 2 суток помещены в чашках Петри в термостат при +26°C, а после разложены на соцветия купыря в садок №2 с клопами, собранными в окрестностях железнодорожной станции Голицыно (Одинцовский район), где эпизоотия толкунчиков не отмечалась и их численность была низкой. В этом случае клопы не проявляли интереса к «приманкам», подвергшимся бактериальному разложению, тогда как в садке №3 на поражённых энтомофторозом трупах, собранных в Губино, клопы из голицынской популяции периодически подкармливались.

Отмеченные факты представляют, несомненно, большой интерес для дальнейших исследований. Многое пока здесь не понятно. Оказалась ли эта «странная» некрофагия клопа-фитофага в природе редким феноменом в год массовой эпизоотии другого вида насекомого в консорции? Насколько закономерно повторяющейся в разные годы является массовая гибель толкунчика большого от энтомофтороза? Не является ли наблюдавшееся очередным примером манипулирования возбудителями грибных инфекций насекомых (и многими другими паразитическими организ-

мами) поведением не только своих хозяев [8], но и сопряжённых видов, которое может способствовать передаче инфекции? Последняя версия не лишена основания – недавно было доказано, что *E. muscae* генерирует химическую смесь летучих сесквитерпенов и изменяет профиль природных кутикулярных углеводов в трупах инфицированных самок *M. domestica*, с которыми в результате этого начинают активно спариваться здоровые самцы, что приводит к увеличению заражения [9].



Список литературы

1. Bałazy S. Entomophthorales. Flora of Poland, Fungi (Mycota), v. XXIV. Krakow, 1993: 356 p.
2. Gryganskiy A.P., Humber R.A., Stajich J.E. et al. Sequential utilization of hosts from different fly families by genetically distinct, sympatric populations within the *Entomophthora muscae* species complex. PLoS ONE, 2013; 8 (8): e71168. doi: 10.1371/journal.pone.0071168. PMID: 23951101; PMCID: PMC3738597.
3. Jensen A.B., Thomsen L., Eilenberg J. Intraspecific variation and host specificity of *Entomophthora muscae* sensu stricto isolates revealed by random amplified polymorphic DNA, universal primed PCR, PCR-restriction fragment length polymorphism, and conidial morphology. J. Invertebr. Pathol., 2001; 78(4): 251-259.
4. Бей-Биенко Г.Я., Вишнякова В.Н., Данциг Е.М. и др. Насекомые и клещи вредители сельскохозяйственных культур. Т.1. Насекомые с неполным превращением. Ленинград., 1972: 324 с.
5. Zakharchenko V., Karpun N., Borisov B. Trophic connections of the brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* Stål in the conditions of the invasive area on the Black Sea coast of the Caucasus. BIO Web Conf., 2020; 21: 00007. doi.org/10.1051/bioconf/20202100007.
6. Iverson J.M., Cira T.M., Burkness E.C., Hutchison W.D. (2016). Cannibalistic oophagy in *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) laboratory colonies. J. Entomol. Science, 2016; 51(2): 122-128.
7. Papa G., Negri I. Cannibalism in the brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* (Stål). Insects, 2020; 11(9): 643. doi.org/10.3390/insects11090643.
8. Борисов Б.А., Дьяков Ю.Т. Как паразиты манипулируют своими хозяевами. Природа, 2014; 6: 22-31.
9. Naundrup A., Bohman B., Kwadha C.A. et al. Pathogenic fungus uses volatiles to entice male flies into fatal matings with infected female cadavers. ISME J., 2022. doi: 10.1038/s41396-022-01284-x.

ИЗУЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ШТАММА *OIDIODENDRON MAIUS*

Чуркина Л.М.¹, Марко А.А.¹, Стручкова И.В.^{1,2}, Березина Е.В.¹

¹ННГУ им. Н.И. Лобачевского

²ООО «МИКОФИТ», Бор

Анаморфный аскомицет *Oidiiodendron maius* Robak является одним из основных видов, образующих эрикоидную микоризу в корнях таких растений семейства Вересковые, как клюква болотная *Oxycoccus palustris* Pers., голубика топяная *Vaccinium uliginosum* L., черника обыкновенная *V. myrtillus* L. и другие. Неоднократно показано, что искусственная инокуляция этим грибом вересковых растений улучшает их рост, развитие и стрессоустойчивость. Отмечается его способность улучшать питание вересковых посредством высвобождения из почвенных комплексов минеральных элементов, таких как азот и фосфор. Полезные

свойства разных штаммов *O. maius* активно исследуются за рубежом. Эти штаммы были выделены за пределами России и хранятся в зарубежных коллекциях [1]. В России *O. maius* обнаруживали достаточно часто, но не исследовали с биохимической точки зрения, а во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов депонирован единственный штамм – *O. maius* VKM F3860.

Целью настоящего исследования являлось изучение ряда биохимических и физиологических особенностей *O. maius* Robak штамма VKM F3860.

Для определения скорости роста и времени вступления в спороношение *O. maius* пересевали, используя посев спорами уколом в центр чашек Петри. Эксперимент проводили на двух агаризованных средах: картофельно-декстрозном агаре и среде Чапека-Докса. О скорости роста грибов судили по изменению диаметра колонии с 4 суток роста до 22 суток роста, измеряя его в двух перпендикулярных направлениях и принимая среднее этих измерений за итоговое значение. Измерения проводили каждый день.

Способность синтезировать ИУК оценивали методом тонкослойной хроматографии. Для этого гриб выращивали на жидких средах: картофельно-декстрозной среде и среде Чапека-Докса с добавлением раствора триптофана (конечная концентрация 2,5 мМ). Экстракцию ИУК из культуральной жидкости (КЖ) осуществляли с помощью модифицированной методики, описанной в работе Н.А.Н. Hasan [2]. На пластину ALUGRAM® Xtra SIL G/UV254 (Macherey-Nagel, Германия) для ТСХ наносили 30 мкл полученного метанольного раствора, концентрируя в точку диаметром не более 3 мм. В качестве метчиков использовали стандартные растворы ИУК и триптофана. Хроматографирование проводили в системе растворителей н-гексан : этилацетат : изопропанол : уксусная кислота = 40 : 20 : 5 : 1 [3]. Для проявления использовали реактив Сальковского.

Для определения концентрации индольных соединений в КЖ использовали колориметрический метод, основанный на методе Сальковского [4]. Оптическую плотность измеряли на микропланшетном спектрофотометре Epoch (BioTek Instruments Inc., США) при длине волны 530 нм. Концентрацию рассчитывали с помощью калибровочного графика, построенного по растворам ИУК.

Способность гидролизовать органические соединения фосфора оценивали по фитазной активности в КЖ. За единицу удельной активности фитазы (У) принимали количество мкг фосфора, высвобождаемого ферментом из фитата натрия за 1 мин в расчете на 1 мг белка. Концентрацию фосфат-ионов определяли спектрофотометрически с помощью рабочего реактива, содержащего молибдат аммония, серную кислоту и ацетон, при длине волны 355 нм.

Способность продуцировать экстрацеллюлярные ферменты, высвобождающие минеральные элементы из почвы, исследовали полуколичественными "чашечными" методами [5,6].

Протеолитическую (казеинолитическую) активность определяли, по появлению зон просветления среды вокруг колонии в исходно мутном молочном агаре [6]. В качестве организма сравнения (позитивного контроля на протеазы) использовали известный продуцент этих ферментов – микромикет *Aspergillus niger* VKM F1119.

Фенолоксидазную активность (совокупную активность лакказы и тирозиназы) определяли по реакции Бавендама в модификации Билай [5] с использованием в качестве индикаторных соединений таниновой кислоты и тетраметилбензидина (ТМБ).

Липолитическую активность определяли по появлению непрозрачных зон кальциевых солей жирных кислот. В качестве водорастворимого аналога природных липидов использовали Tween-40.

Гриб *O. maius* рос со средней скоростью 0,7 мм/сут на картофельно-декстрозной среде и 0,6 мм/сут на среде Чапека-Докса, что позволяет считать его медленно растущим. Спороношение на среде Чапека-Докса наблюдалось на 15 сутки культивирования, на картофельно-декстрозном агаре – на 22 сутки.

Методом тонкослойной хроматографии в пробе КЖ гриба выявлено наличие индольных пятен, расположение и окраска которых соответствовала ИУК. Обнаружено, что синтез индольных соединений у *O. maius* происходит как при наличии, так и в отсутствие триптофана в среде роста гриба. Кроме того, даже при выращивании *O. maius* на средах без внесения триптофана при хроматографировании выявлены пятна, соответствующие триптофану. Также отметим, что синтез ИУК не отличается стабильностью и не приурочен к какому-то определенному составу питательной среды; причина этой нестабильности нами пока не выявлена.

Концентрация индольных соединений при выращивании гриба на среде Чапека составила в среднем 65 мкг/мл. При выращивании на картофельно-декстрозной среде концентрации индольных соединений значительно ниже, в среднем 36 мкг/мл.

Установлено, что *O. maius* обладает активностью экстрацеллюлярных фитаз. Удельная активность фитаз гриба была максимальна на 14 сутки и достигала значения $7,4 \pm 1,5U$. Кроме того, у штамма *O. maius* в применявшихся нами условиях культивирования выявлены протеолитическая и фенолоксидазная активности экстрацеллюлярных ферментов. Липолитическая активность не обнаружена.

Наличие фитазной активности говорит о способности исследуемого штамма мобилизовать фосфор из широко представленного органического соединения почвы фитата. Остальные активности способствуют гидролизу полимеров в составе почвенных частиц и окислению труднорастворимых соединений в почвенных комплексах. Это приводит к упрощению структуры атакуемых соединений, их полной минерализации или облегчению атаки на них следующему набору ферментов, что в целом делает эти соединения более доступными для растения. Улучшение питания в конечном итоге обеспечивает благополучие ягодных растений семейства Вересковые и поэтому имеет высокий практический интерес.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №22-74-00107.

Список литературы

1. Wei X., Chen J., Zhang Ch., Pan D. A new Oidiodendron maius strain isolated from Rhododendron fortunei and its effects on nitrogen uptake and plant growth // Front Microbiol. 2016. V. 7, №140. P. 1-11.
2. Hasan H.A.H. Gibberellin and auxin production by plant root - fungi and their biosynthesis under salinity-calcium interaction // Folia Microbiol. 2002. V. 48, №3. P. 101-106.
3. Kumla J., Suwannarach N., Matsui K., Lumyong S. Biosynthetic pathway of indole-3-acetic acid in ectomycorrhizal fungi collected from northern Thailand // PLoS ONE. 2020. V.15. N1: e0227478. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227478>
4. Glickmann E., Dessaux Y. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria // Appl. Environ. Microbiol. V. 61, №2. 1995. P. 793-796.
5. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии // Киев, 1982. 552 с.
6. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высших учебных заведений. М., 2005. 608 с.

МИКРОМИЦЕТЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЯЗВЕННОГО ДЕРМАЛЬНОГО НЕКРОЗА У АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ (SALMO SALAR L.)

Карасева Т.А.

Полярный филиал ФГБНУ «ВНИРО» («ПИНРО» им. Н. М. Книповича), Мурманск

Большинство научных данных о микозах и микотоксикозах относится к культивируемым рыбам, содержащихся в искусственных условиях. В рыбоводстве основным источником грибов являются гранулированные корма, которые могут быть заражены плесневыми и дрожжеподобными грибами в процессе хранения или при использовании зараженного сырья при изготовлении кормов. К числу наиболее часто встречающихся в кормах микромицетов относятся представители таких родов, как *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor*, *Candida* и различные виды дрожжей. Реже заболевания у культивируемых лососевых рыб вызывают условно-патогенные грибы, обитающие в окружающей природной среде, в частности, *Phoma herbarum*, *Exophiala salmonis*, *Phialophora sp.*, *Ochroconis humicola*. Однако в отличие от аквакультуры микоз у диких рыб – явление редкое и поэтому всегда представляет научный интерес.

В связи с этим настоящая работа посвящена заболеванию у анадромных мигрантов атлантического лосося – язвенному дермальному некрозу (ulcerative dermal necrosis или UDN) (Roberts, 1993), в патогенезе которого важную роль играют микромицеты. Заболевание возникает в пресной воде в период нерестовой миграции лососей и является причиной смертности и значительного снижения численности популяций (Карасева, Голикова, 2021).

Микологические исследования проводили в 2015-2021 гг. в комплексе с вирусологическими, бактериологическими, гистологическими и другими диагностическими и физиологическими исследованиями. Посевы патологического материала (кусочки пораженной кожи и слизи) выполняли асептически от свежесловленных рыб, изъятых сачком из ловушек рыбоучетных сооружений, на картофельно-декстрозный агар, сусло-агар и декстрозный агар Сабуро производства фирмы OXOID (Великобритания).

На территории Российской Федерации вспышка эпизоотии язвенного дермального некроза впервые произошла летом 2015 г. в двух реках бассейна Баренцева моря. В течение последующих четырех лет происходило распространение болезни, в том числе в бассейне Белого моря.

Несмотря на то, что первое описание болезни было опубликовано в 19 веке, а впоследствии были выполнены многочисленные исследования, этиология UDN до сих пор остается неизвестной. В ареале атлантического лосося симптомы заболевания примерно одинаковые. У производителей, идущих в реки на нерест, наблюдается очаговое поражение кожного покрова в виде тусклых, без эпителия и чешуи пятен, красных пятен или концентрических кругов, более заметных на брюшной стороне тела рыб. По мере развития патологического процесса на участках геморагий в больших количествах поселяются микромицеты. Грибы вызывают некроз эпидермиса и подлежащих мышечных тканей, а также некротические язвы, которые обычно окружены обильным мицелием.

В результате микологического исследования установлено, что в первые годы эпизоотии (2015-2016 гг.) рыба была заражена преимущественно сапролегниевыми грибами *Saprolegnia sp.* В 2017 г. произошла смена доминирующих видов, так как в посевах преимущественно встречались грибы порядка Mucorales, и лишь изредка на чашках выростали колонии сапролегии.

Выделенные на питательных средах культуры мукоральных грибов были идентифицированы как *Mucor circinelloides* Tiegh (Пидопличко, Милько, 1971). При этом гриб развивался как в бесполой, так и половой формах. Штаммы вызывали α -гемолитическую эритроцитозу барана на кровяном агаре и обладали ферментативной активностью. В мазках-отпечатках головного мозга, головной почки, жабр и крови обнаружены круглые неокрашенные клетки диаметром 10-20 мкм. Допускается, что они принадлежат *M. circinelloides*, который относится к гетероталлическим видам, у которых при паразитировании в живом организме может образовываться дрожжевая стадия. Кроме *M. circinelloides* в разные периоды исследования из участков геморрагического поражения кожи и слизи лососей периодически выделялись представители несовершенных грибов: *P. herbarum*, *Sporotrix schenckii*, *Alternaria alternate*, *Acremonium sp.* В этой группе по частоте встречаемости лидирующее положение принадлежит *P. herbarum*.

Известно, что гриб *M. circinelloides* широко распространен в природе, является возбудителем инфекции у лягушек и других земноводных, у которых вызывает, в основном, дерматиты (Саттон, Фотергилл, Ринальди, 2001). В отношении патогенности данного вида для рыб сведений не обнаружено. Вместе с тем, тот факт, что грибы каким-то образом связаны с заболеванием UDN, не представляет сомнений. Действительно, больную рыбу в реках распознают, главным образом, по наличию колоний грибов, которые в воде выглядят белыми пятнами.

Для человека мукороз рассматривается как хронический микоз, характеризующийся поверхностными изменениями, прорастанием в сосуды и способностью расти вдоль них (Хмельницкий, Хмельницкая, 2005). Возможно, что аналогичное негативное воздействие *M. circinelloides* оказывает и на рыб, о чем свидетельствуют многочисленные сосудистые нарушения не только в коже, но также в жабрах и внутренних органах больных особей.

Основным фактором, провоцирующим заражение микромицетами, является ослабление иммунитета, обусловленное, скорее всего, гормональным дисбалансом у атлантического лосося в период нерестового хода и нереста, что сопряжено с повышением восприимчивости рыб к болезням. Принимая во внимание, что кожа рыб играет важную роль в газообмене и осморегуляции предполагается, что гибель рыб происходит в результате нарушения одной или обеих функций.

Список литературы

1. Roberts R. J. Ulcerative dermal necrosis (UDN) in wild salmonids // Fisheries Research. – 1993. – V. 17. – Iss. 1-2. – P. 3-14.
2. Карасева Т. А., Голикова Л. Н. Язвенный дермальный некроз (UDN) и влияние болезни на воспроизводство атлантического лосося (*Salmo salar* L.). // Биология водных экосистем в XXI веке: факты, гипотезы, тенденции: тезисы докладов Всероссийской конференции, посвященной 65-летию Института биологии внутренних вод имени И.Д. Папанина Российской академии наук: сборник / Ин-т биологии внутр. вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, 22-26 ноября 2021 г. – Ярославль: Филигрань, 2021. – С. 90.

3. Пидопличко Н.М., Милько А.А. Атлас мукоральных грибов. – Киев: «Наукова думка», 1971. – 162 с.
4. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов: пер. с англ. – М.: Мир, 2001. – 486 с.
5. Хмельницкий О. К., Хмельницкая Н. М. Патоморфология микозов человека. – СПб.: Издательский дом СПб-МАПО, 2005. – 432 с.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ SWEET ТРАНСПОРТЕРЫ В АРБУСКУЛЯРНО-МИКОРИЗНОЙ СИМБИОСИСТЕМЕ

Крюков А.А., Юрков А.П.

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург

Растительные транспортеры сахаров относятся к трем ключевым семействам – SUT (SUC), MST (включая подсемейства STP, TMT, PMT, VGT, pGlt/SGB1, ESL, INT) и SWEET (Sugars Will Eventually be Exported Transporters). SUT транспортеры осуществляют транспортировку сахарозы из листьев на дальние расстояния, после чего сахара попадают в целевые органы и различные ткани растений, расщепляются на моносахара и транспортируются MST белками. Наименее изученной группой является семейство SWEET транспортеров, которые работают энергонезависимо в обоих направлениях для транспортировки различных сахаров во всех органах и тканях растений. В этом семействе транспортеров, впервые описанным в 2010 году Л.К. Ченем согласно современным представлениям могут быть выявлены белки, специфичные для развития АМ-симбиоза (Chen et al., 2010). В настоящее время, считается, что SWEET транспортеры встречаются у всех живых организмов (Feng et al., 2015). В тоже время отмечается, что число вариантов и изоформ этих транспортеров отличается даже у близких организмов. Нумерация новых SWEET белков, обнаруживаемых у других организмов, проводится согласно их ортологии с белками у *Arabidopsis thaliana*.

При исследовании транспортеров оказалось, что SWEET гены растений, несмотря на низкую гомологию, все же группируются в 4 клады (Chen et al., 2015). Данное разделение в эволюции произошло очень давно, и представители каждой из клад наблюдаются почти у всех (возможно всех) наземных растений. Считается, что представители четырех клад разделяются не только филогенетически, но и функционально. Так, большинство исследователей отмечают, что представители I и II клады этих белков транспортируют гексозы, III клады – преимущественно участвуют в транспорте сахарозы и IV клады – преимущественно включены в процессы транспорта фруктозы (Chen et al., 2012; Feng et al., 2015).

SWEET белки участвуют во множестве процессов, будь то в растении или у животных. Кроме транспорта углеводов, по всей видимости, они могут участвовать в транспорте и других агентов, например, гиббереллинов, что было показано на арабидопсисе (Kanno et al., 2016). Также на горохе (*Pisum sativum*) было обнаружено, что взаимодействие между транспортерами SWEET и CWINV (инвертаза клеточной стенки) в присутствии цитокининов приводит к образованию множественных побегов и потере апикального доминирования во время заражения патогеном *Rhodococcus fastian* (Doidy et al., 2019).

Для выяснения и уточнения функций, локализации и изменчивости SWEET белков проводится ряд исследований, в том числе и нашей научной группой. Для исследований нами была селектирована быстрорастущая на обработку АМ-грибом и сильно микотрофная растительная линия MIS-1 люцерны хмелевидной (*Medicago lupulina*). Главное преимущество данной системы – возможность

тонко реагировать на изменения питания в почве, при недостатке его растение принимает карликовую форму без инокуляции АМ-грибом и восстанавливает нормальный фенотип при микоризации.

Известно, что в симбиозе АМ-гриб получает от растения продукты фотосинтеза – углеводы. Поэтому целью нашей работы была оценка уровней экспрессии генов семейства SWEET транспортеров (единственного семейства, где могут быть обнаружены специфические углеводные транспортеры) в модельной системе у *M. lupulina*.

Оценка экспрессии генов осуществлена в условиях среднего уровня фосфора для 7 сроков учета. На каждом сроке отдельно собирался материал листьев и корней и замораживался в жидком азоте с 3 кратной биологической повторностью. РНК выделялась тризольным методом с модификациями. Оценка экспрессии проводилась с 4 кратной технической повторностью. Результаты показали, что генами кандидатами на специфическую экспрессию в листьях микоризованного растения-хозяина при среднем уровне Рд в субстрате являются: MISWEET1b, MISWEET12, MISWEET13, MISWEET16, MISWEET3c и MISWEET2c. Стоит отметить, что хотя для генов MISWEET7 и MISWEET11 фиксировалось повышение экспрессии, нами это отнесено к ошибке из-за поздних циклов выхода гена в реал-тайм ПЦР (как для листьев, так и для корней). С другой стороны, генами кандидатами на специфическую экспрессию в корнях микоризованного растения-хозяина являются: MISWEET1a, MISWEET1b, MISWEET3c, MISWEET12 и SWEET15c. Среди них абсолютное лидерство за геном MISWEET1b, который с уверенностью можно считать хорошим маркером со специфической экспрессией для эффективного развития АМ-симбиоза *M. lupulina* с *R. irregularis* в условиях среднего уровня Рд в субстрате.

Следует отметить, что исследований на сильно микотрофной линии растения (как выполнено в настоящей работе на линии MIS-1 *M. lupulina*) в условиях среднего уровня Рд в субстрате еще не проводилось, и потому следует полагать, что наши результаты по соответствующим генам на сильно микотрофной линии *M. lupulina* получены впервые. Также отсутствуют исследования динамики экспрессии генов семейства SWEET при развитии АМ, покрывающие все ключевые фазы развития растения-хозяина, что, как показывают результаты настоящего исследования, является необходимым и важным аспектом при изучении механизмов, контролирующих развитие эффективной АМ.

Работа актуальна, поскольку изучение механизмов установления и поддержания симбиоза АМ, в частности транспорта сахаров от растения к грибам, способствует созданию высокопродуктивных растительно-микробных систем и развитию сельского хозяйства.

Научные исследования проводятся при поддержке РФФИ 19-29-05275_МК, РФФИ 20-016-00245, РНФ 22-16-00064.

Chen L.Q., Hou B.H., Lalonde S., et al. Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. *Nature*. 2010;468:527–532. DOI 10.1038/nature09606.

Feng C.Y., Han J.X., Han X.X., Jiang J. Genome-wide identification, phylogeny, and expression analysis of the SWEET gene family in tomato. *Gene*. 2015;573:261–272. DOI 10.1016/j.gene.2015.07.055.

Chen L.Q., Cheung L.S., Feng L., Tanner W., Frommer W.B. Transport of Sugars. *Annual Review of Biochemistry*. 2015;84(1):865–894. DOI 10.1146/annurev-biochem-060614-033904.

Chen L.Q., Qu X.Q., Hou B.H., et al. Sucrose efflux mediated by SWEET proteins as a key step for phloem transport. *Science*. 2012;335:207–211. DOI 10.1126/science.1213351.

Kanno Y., Oikawa T., Chiba Y., et al. AtSWEET13 and AtSWEET14 regulate gibberellin-mediated physiological processes. *Nat Communications*. 2016;7:13245. DOI 10.1038/ncomms13245.

Doidy J., Vidal U., Lemoine R. Sugar transporters in *Fabaceae*, featuring SUT MST and SWEET families of the model plant *Medicago truncatula* and the agricultural crop *Pisum sativum*. *PLoS ONE*. 2019;14(9):e0223173. DOI 10.1371/journal.pone.0223173.

МАКРОСИГНАЛИНГ В ОППОРТУНИСТИЧЕСКОМ ГРИБКОВОМ СООБЩЕСТВЕ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Лахтин В.М., Лахтин М.В., Байракова А.Л.

Институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского, Москва

Борьба с распространением грибковых патогенов класса Ascomycetes (особенно, родов *Candida* и *Aspergillus*) в организме в случаях низкой эффективности антибиотиков, поиск и разработка альтернативных антибиотикам веществ являются актуальными задачами современной медицины.

Цель исследования. Обобщить собственные результаты [1-15] о динамике в условно патогенном грибковом сообществе (УПГС) с варьирующими паттерновыми состояниями грибкового микробиоценоза (дрожжеподобного, грибкового смешанного).

Материалы и методы. Изложены в наших публикациях в 2009-2022 гг. [1-15].

Результаты. В основе представлений о сигналинге в УПГС лежат следующие свойства, положения, гипотезы и стратегии: *разнообразие сигналов в УПГС во время стресса представлено тремя категориями: макросигналами - визуальными паттернами всей территории УПГС и ее регионов; микросигналами - составляющими территорию УПГС микропаттернами с характерными для них процессами; молекулярными сигналами физического, химического и биохимического окружения, в том числе пробиотическими лектинами с альтернативным антибиотикам действием; *ранняя (дни) способность прерывисто посеянного на агар УПГС к обмену сигналами; *наличие в УПГС градиентов возрастания числа слоев, их веса и высоты от периферии к центру (центральная область как максимально резистентная к противогрибковым препаратам); *во время стресса проявляются сигналы УПГС: центростремительные-центробежные; «лево-право», по периметрам УПГС; «верх-низ» в мультислое, порах и гелевой гидрофильной среде; связанные с высокой проникающей и метаболической активностями в периферических областях (пограничная и приграничная области - максимально чувствительные зоны сигналинга, обмена сигналами по градиенту периферия—центр); относительно быстродействующие («автоматические» эволюционно развитые и закрепленные защитные ответы на периферии УПГС) и замедленные (во внутренних относительно консервативных областях УПГС с выраженными слоями клеток; в отношении действий по передислокации в УПГС; сеть реакций, обращенных на изменение внутренних - относительно резистентных коммуникаций); *наличие сигналинга «Стресс (физическое [температурное, световое, частотное], химическое, биохимическое, пищевое возбуждение/ таксис в окружении

УПГС)—Покой (консервация, выполнение нормального жизненного цикла)»; *наличие мультислоев УПГС, защищенных в результате достройки или перестройки, в том числе путем 3D-увеличения и наращивания, а также вовлечения консервации; *управление подии-подобными динамичными структурами УПГС при распространении гриба на/и в пористых средах; *резистентность и уязвимость УПГС, обусловленные химической и физической неоднородностью ландшафта для адгезии УПГС; *амплификация сочетаний «Лакуна/выемка/лунка—Вал/мультислой» в УПГС: уязвимость мультиостровкового статуса УПГС на фоне сети лагун/озер, доступных противомикробным и другим препаратам и сигналам; использование механизма «Лакуна-Вал» в управлении перераспределения автолиза, апоптоза и (как результат апоптоза) межклеточного каннибализма на территории УПГС; *моноцентричность УПГС (поддержка стратегии УПГС на регенерацию - зарастание лагун при мультицентричности/ мультиполярности путем синхронного межфазного разрастания нижних слоевых мультицентров в лакуны); *синергизм аскомицетных грибов (дрожжеподобных [на примере рода *Candida*] и плесневых [на примере рода *Aspergillus*]) в едином УПГС: усиление таксономически близкого грибкового смешанного территориально, по устойчивости к лизису, в отношении защиты от бактерий и бактериальных сообществ; *наличие «скелета» УПГС (особенно видного в случаях остаточных под влиянием стресса сообществ и их биопленок; диагностико-прогностически значимого), в том числе, в зависимости от присутствия пробиотических сигналов, включая распознающие и связывающие гликоконъюгатные метаболитов - метаболомбиотиков (лектинов, ферментов, лектиноферментов) бифидобактерий и лактобацилл; *антибиотики-подобное (выраженные антибактериальное [полное отсутствие бактерий] и, в меньшей степени, антигрибковое [имеет место отсроченное последовательное появление грибных родов]) действие УПГС в лакунах (в том числе в составе исходно смешанных грибковых культур); *преemptивность сигналинга твердофазного УПГС в состоянии суспензионного/ планктонного статуса УПГС в ранних (2-3 дня) культурах (является одним из обоснований функционирования «разрозненного»/ «разрыхленного» УПГС в организме как «единого целого»); участие белок-гликоконъюгатного распознавания, связывания и направленной сборки в комплексы, надмолекулярные ансамбли, ча-

стичковые и другие 3D-структуры в функционировании УПГС в интерактивной сети организма как «сеть-на-сеть» и «сеть-в-сети».

Выводы. Общие представления о сигналинге в связи с функционированием УПГС чрезвычайно важны и перспективны для: а) предварительной диагностико-прогностической оценки статуса содержащего грибы микробиоценоза мукозальных биотопов; б) оценки негативного текущего потенциала УПГС как единого целого (в том числе суспензионного и мультиостровкового) при его распространении и функционировании в организме человека по метаболитным осям с попаданием в органы [включая мозг] и ткани и функционированием в них; в) скрининга и характеристики новых эффективных против УПГС про/пре/синбиотических метаболомбиотиков и метаболитов (ферментов [в том числе ферментов углеводного обмена], полисахаридов, гликоконъюгатов, лектинов, других белковых и небелковых факторов, кофакторов и сигналов), их комбинаций, в том числе с антибиотиками и другими лекарствами. Рассмотрение УПГС представляет собой новый подход к испытанию противогрибкового действия не только поисковых природных, но и сконструированных эффекторных метаболитных низко- и высокомолекулярных биопрепаратов в связи с профилактикой и терапией инфекционных болезней.

Список литературы

1. Лахтин В.М., Алешкин В.А., Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Пожалостина Л.В., Поспелова В.В. Лектины пробиотических штаммов лактобацилл и бифидобактерий: антипатогенные свойства. Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения : материалы юбилейной Всероссийской научно-практической конференции посвященной 90-летию Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. И. Н. Блохиной Роспотребнадзора и 20-летию Приволжского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД, Нижний Новгород, 15–17 июня 2009 года / Редколлегия: ЕИ Ефимов (ответственный редактор), ГИ Григорьева, НН Глухов. – Нижний Новгород: ФБУН “Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика ИН Блохиной” Роспотребнадзора, 2009: 146-9.
2. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., Пожалостина Л.В., Поспелова В.В. и др. Противогрибковый потенциал лектиновых пробиотических и фитопрепаратов: типы, механизмы и факторы действия против патогенных грибов человека. Практическая фитотерапия. 2009; Специальный выпуск: 17–25.
3. Lakhtin M., Alyoshkin V., Lakhtin V., Afanasyev S., Pozhalostina L., Pospelova V. Probiotic lactobacillus and bifidobacterial lectins against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* clinical strains: new class of pathogen biofilm destructors. *Probiotics Antimicrobial Proteins*. 2010; 2(3): 186-96, DOI: 10.1007/s12602-010-9046-3.
4. Лахтин В.М., Лахтин М.В., Байракова А.Л., Афанасьев С.С. Стратегия и тактика условно-патогенного микромикета как коммуникационного тела: кандиды в условиях стресса, «лакуна-вал» как универсальный ответ. *Успехи медицинской микологии*. 2013; 11: 30-3.
5. Lakhtin V.M., Lakhtin M.V., Bajrakova A.L., Afanasiev S.S. *Candida albicans*: New Aspects of Patogenicity, Interaction to Antifungals, Biofilms and Preventive Anti-Candida Strategies - The Overview of Own Works. In: *Candida Albicans: Symptoms, Causes and Treatment Options*. Eds LA Dietrich and TS Friedmann. New York: Nova Science Publishers, 2013: 145-52. ISBN: 978-1-62808-883-0 (eBook). ISBN: 978-1-62808-882-3.
6. Лахтин В.М., Лахтин М.В., Алешкин В.А. Бифидобактерии – перспективные источники адаптируемых функционально сцепленных во времени и пространстве распознающих гликоконъюгаты антимикотиков, ключевые участники выстраивания в организме единой метаболитно-клеточной анти(грибковые патогены)-сети лектинового нацеленного типа. *News Science Education*. 2020; 3(3): 6-15.
7. Lakhtin V.M., Lakhtin M.V., Davydkin V.Yu., Melikhova A.V., Davydkin I.Yu., Zhilenkova O.G. et al. Antibiotic like systems of bifidobacteria and lactobacilli. *American Scientific Journal*. 2021; 44-1: 4-8. DOI: 10.31618/asj.2707-9864.2020.1.44 . ISSN 2707-9864.
8. Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Лахтин В.М., Байракова А.Л., Алешкин В.А. Лектины пробиотических бактерий человека препятствуют распространению смешанных микобиопленок «Кандиды + Аспергиллы» микобиоты урогенитального биотопа человека. *Успехи медицинской микологии*. 2014; 12: 34-7.
9. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Байракова А.Л., Афанасьев С.С. Взаимовлияние дрожжеподобных грибов и грамположительных бактерий на биопленкообразование: потенциал и перспективы. *Успехи медицинской микологии*. 2015; 14: 199-201. Doi: 10.14427/amm2015.xiv.04. ISBN 978-5-901578-18-6, ISSN 2310-9467.
10. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Байракова А.Л., Алешкин В.А. Биопленкообразование в биотопном микробиоценозе человека: модель для прогностических расчетов межмикробных взаимосвязей. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2015; 3: 56-61.
11. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С. и др. Биопленки грибов: решающая роль инициатора сборки в пролонгировании резистентности и деградации. *Успехи медицинской микологии*. 2015; 14: 196-8. Doi: 10.14427/amm2015.xiv.04.
12. Лахтин В.М., Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Байракова А.Л., Алешкин В.А. Имиджевый контроль коммуникативных грибковых тел в присутствии пробиотических гликоконъюгаты-распознающих систем: перспектива для исследования имиджевой дегенерации тканей и органов. *Успехи медицинской микологии*. 2015; 14: 202-4. Doi: 10.14427/amm2015.xiv.04.
13. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Караулов А.В., Байракова А.Л., Алешкин В.А. и др. Синбиотоп - базисный против грибково-бактериальных патогенов: новые антикандидные стратегии. *Успехи медицинской микологии*. 2016; 15: 261-4.
14. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Байракова А.Л., Алешкин В.А., Афанасьев М.С. Кандидные маркеры болезней урогенитальных биотопов: реактивность к лектинам пробиотиков. *Acta Biomedica Scientifica*. 2018; 3(1): 49-53. Doi: 10.29413/ABS.2018-3.1.7.
15. Лахтин В.М., Лахтин М.В. Биопленки клинических штаммов *Candida albicans* и *Staphylococcus aureus*: лизис в присутствии лектинов пробиотиков как стратегия терапии «мишень-в-мишени». *Успехи медицинской микологии*. 2020; 21: 44-8.

БЕЛКИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ С АНТИКАНДИДНЫМ ДЕЙСТВИЕМ В ПОДДЕРЖКЕ ПРОБИОТИЧЕСКОГО КОМПАРТМЕНТА МУКОЗАЛЬНОГО БИОТОПА

Лахтин В.М., Лахтин М.В., Байракова А.Л.

Институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского, Москва

Лектиновые белки, распознающие и связывающие гликоконъюгаты, пробиотического компартмента биотопов, содержащих лактобациллы и бифидобактерии, реализуют спектр антигрибковых [наши данные] и других полезных для человека активностей, участвуют в коммуникациях «Микроб—Микроб» и «Микроб—Хозяин» [1-9]. Подтверждено наличие у лактобацилл наборов (муцины слизистой кишечника)-связывающих белков с мало исследованными свойствами. Участие белковых компонентов пробиотических микроорганизмов в сети коммуникаций типа чувства кворума (QS) и перекрестного «разговора» (Cross Talk) в настоящее время находит новые подтверждения.

Цель – исследовать влияние лектинов пробиотиков с установленной нами антигрибковой активностью на статус пробиотического компартмента мукозального биотопа.

Материалы и методы. Использовали собственные полученные и охарактеризованные препараты лектинов из культур мультиштаммового пробиотика Ацилакт, составляющих Ацилакт штаммов лактобацилл, а также из культур пробиотических штаммов бифидобактерий. Лактобациллы и кандиды выделялись от пациентов, наблюдавшихся в КДЦ при МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского. Взаимодействие лектинов с клетками исследовали турбидиметрией суспензий в плоскодонных 96-луночных микропанелях.

Результаты и обсуждение.

Влияние лектинов пробиотических микроорганизмов (ЛПМ) на условно-патогенную и пробиотическую составляющие биотопов

Патогенность видов кандид коррелирует не только с их чувствительностью к антимикотикам, но и с присутствием ЛПМ. Так, антимикотическое действие ЛПМ было более выраженным к клиническим штаммам вида *C. albicans* (более патогенны, поражают, как правило, больше индивидуумов по сравнению с *C. tropicalis* и *C. krusei*) при сравнении с штаммами видов *C. non-albicans* (*C. tropicalis* и *C. krusei*). В одинаковых условиях эксперимента, выраженность взаимодействия ЛПМ с кандидами статистически достоверно различалась между видами и снижалась в ряду условного уменьшения патогенности вида.

Характер взаимодействия ЛЛ со штаммами лактобацилл в суспензиях указывают на наличие трех групп лактобацилл в нормальном урогенитальном биотопе человека (табл. 1). Группа III не выявлялась при высоких плотностях суспензий (вплоть до D540=5), по-видимому, из-за усиления лектин-независимых межклеточных взаимодействий. Группа III достоверно отличалась от групп I или II при низких плотностях, поэтому в дальнейшем использовались суспензии бактерий с плотностями 0,5–1,0,

Табл. 1. Группы лактобацилл, выявленные в нормальном урогенитальном биотопе человека, по данным взаимодействия с лектинами лактобацилл (ЛЛ).

Группы (штаммы)	Разведения препарата					
	1 : 10А	1 : 100Б	1 : 1000В	1 : 10Г	1 : 100Д	1 : 1000Е
I (9, 15, 54, 215, 288, 296, 664, 856)	4,43 ± 1,51	4,00 ± 1,85	4,01* ± 1,26	5,00 ± 0,00	5,00* ± 0,00	5,00* ± 0,00
II (2, 14, 21, 51, 53)	14,00 ± 7,48	3,20 ± 1,30	1,00* ± 0,00	7,00 ± 2,74	3,60* ± 0,89	1,40* ± 0,88
III (30, 239, 683)	2,33 ± 2,31	3,67 ± 2,71	7,00* ± 2,65	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.

Примечание. Группы штаммов включают: I – резистентные к ЛЛ (не реагируют на изменение концентрации ЛЛ); II – для чувствительности требуются относительно высокие концентрации ЛЛ (снижение чувствительности по мере снижения концентрации ЛЛ); III – чувствительность к низким концентрациям ЛЛ (сенсорные штаммы: возрастание чувствительности к ЛЛ по мере снижения их концентрации); даны значения относительной выраженности числа бактерий в одном и том же объеме суспензии через сутки контакта с ЛЛ; суспензии с плотностью 0,5 (А, Б, В) или 5,0 (Г, Д, Е); *различия достоверны в случаях В между группами I и II или между группами II и III (P < 0,05), а также в случаях Д между группами I и II (P < 0,01) и Е между группами I и II (P < 0,01); исходная концентрация – 100 мкг/мл.

Позволяющие одновременно исследовать большее число активностей лектинов. Такие плотности суспензий при исследовании влияния лектинов используются как оптимальные и в отношении других микроорганизмов. По мере снижения рабочей концентрации ЛЛ усиливались различия между группами I и II, или II и III, которые становились статистически достоверными при субцитоагглютинирующих дозах лектинов. Достоверность различий между I и II группами усиливалась при относительно повышенной (оптимальной) плотности суспензий. Препарат ЛЛ в разбавлениях в 10–1000 раз проявлял бактериостатическое действие в отношении штаммов 296, 2, 14 и 30. Препарат оказывал умеренное бактериостатическое действие на штаммы 21 и 51 при разбавлениях 1:100 и выше.

Исследование ЛЛ в более широком диапазоне концентраций в отношении изолята 856 показало выраженное бактериостатическое действие препарата в разбавлениях в 10–1000 раз. Значение плотности суспензии (D540) лактобацилл до внесения лектинов мало влияло на характер взаимодействия препарата с клетками. Препарат ЛЛ оказывал выраженное или умеренное бактериостатическое действие в отношении ряда штаммов. Суспензии лактобацилл с плотностью 2 позволяли более отчетливо выявлять эффект супрессии роста по сравнению с суспензиями с плотностью 1.

В концентрациях, субагглютинирующих клетки человека, близких к физиологическим концентрациям в организме, кислые ЛПМ лучше катионных ингибировали рост *Candida albicans*, изолированных от пациентов. Кислые лектины бифидобактерий (ЛБ) были эффективнее кислых ЛЛ. Антикандидозная активность ЛПМ была термочувствительной и определялась белковой частью препарата. Активность, стимулирующая рост эукариотических клеток (гриба), обнаруживалась лишь при высоких (агглютинирующих клетки эукариотов) концентрациях ЛПМ и определялась (дозозависимым образом) углеводной/полисахаридной, но не липидной составляющей препарата лектинов. Она была выше у ЛБ по сравнению с ЛЛ, максимальна у катионных ЛБ и отсутствовала у кислых ЛЛ. ЛПМ обладали также и антистафилококковой активностью. В организме человека мультиштабный пробиотик Ацилакт, как потенциальный источник лектиновых иммунокорректоров и индукторов цитокинов, имеет синергистические преимущества по сравнению с входящими в него штаммами тремя штаммами (НК1, 100аш и КЗП24), поскольку иммуномодулирующие свойства одного пробиотического штамма дополняются аналогичными свойствами другого пробиотического штамма.

ЛПМ-агглютинация *Candida non-albicans*, относительно более выраженная у кислых ЛЛ, чем у ЛБ, в большей степени мешала приросту биомассы *S. glabrata* и в большей степени влияла на уровень секреторных протеиназ. Как и в случае других видов кандид, эффективность ЛПМ против *S. glabrata* реализовалась при высоких разведениях. Поскольку для лектинов характерны процессы сборки, не исключено, что при таких разведениях ЛПМ диссоциируют и присутствуют в рефолдинговой, близкой к исходной нативной, конформации с повышенной биологической активностью.

Катионные ЛПМ, по-видимому, реализуют детергент-подобные свойства, характерные в том числе и для ассоциированных с углеводами белков. Это согласуется с системными свойствами ЛПМ, их способностью к кофункционированию. Интересно, что катионные сурфактанты способны действовать в очень высоких разведениях, супрессировать активности протеиназа кандид, влиять на

другие вирулентные факторы. ЛПМ влияют не только на гидролазные, но и на другие факторы вирулентности кандид, которые часто взаимосвязаны в процессах развития гриба. По-видимому, детергент-подобные свойства ЛПМ важны для нахождения и достижения грибковых мишеней в грубых экстрактах, сложных системах *in vivo*.

Закключение. Лектины пробиотической микрофлоры вместе с распознаваемыми ими гликоконъюгаты вовлекаются в первичные (прямые, иницирующие) и вторичные (опосредованные, сетевые, ответственные за пролонгирование действия) процессы поддержки биотопа, его противостояния грибковым инфекциям и болезням. Результаты свидетельствуют о наличии ауторегуляторных поддерживающих пробиотический компартмент биотопов с участием лектинов пробиотиков сигналов в связи с QS в микробиоценозах, надзором против экспрессии негативных свойств в биотопе, поддержкой микробиологических взаимосвязей пробиотической микрофлоры. Лектины пробиотиков успешно имитируют функции клеток-пробиотиков при их отсутствии, кофункционируют с защитными системами человека. Сигнальный характер взаимоотношений вдоль метаболических осей имеет место как в горизонтальном направлении (Микроб—Микроб), так и в направлении иерархического интерактома человека. Результаты указывают на новые перспективы применения ЛПМ и гликоконъюгатов в медицинской микробиологии и биотехнологии, предполагающих использование ЛПМ в качестве вспомогательных ингредиентов лекарств.

Список литературы

1. Lakhtin V., Lakhtin M., Alyoshkin V. Lectins of living organisms. *Anaerobe*. 2011; 17(6): 452-5. DOI:10.1016/j.anaerobe.2011.06.004.
2. Lakhtin M., Lakhtin V., Aleshkin A. et al. Lectin systems imitating probiotics: potential for biotechnology and medical microbiology // In: "Probiotics 2012", Edited by E.C. Rigobelo. – New York, InTech, 2012. – P. 417–32. ISBN 978-953-51-0776-7.
3. Lakhtin M., Alyoshkin V., Lakhtin V. et al. Probiotic Lactobacillus and Bifidobacterial Lectins against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* Clinical Strains: New Class of Pathogen Biofilm Destructors. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2010; 2(3): 186-96. DOI: 10.1007/s12602-010-9046-3.
4. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С. и др. Кандидные маркеры болезней урогенитальных биотопов: реактивность к лектинам пробиотиков. *Acta Biomedica Scientifica*. 2018; 3(1): 49-53. DOI: 10.29413/ABS.2018-3.1.7.
5. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Распознающие гликоконъюгаты белки мукозального иммунитета человека: лектиновые системы пробиотического компартмента биотопов слизистых открытых полостей организма. *Фармация*. 2020; 69(1): 10-6. <https://doi.org/10.29296/25419218-2020-01-02>
6. Lakhtin M.V., Lakhtin V.M., Bajrakova A.L. et al. Probiotic recognition factors influencing microbiocenosis microecology: Prospects for medical biotechnology. *Приднепровский научный вестник*. 2020; Vol. 3; № 4 (elibrary Том 4; № 3): 3-19. ISSN 1561-6940.
7. Lakhtin M.V., Lakhtin V.M., Aleshkin V.A., Afanasiev S.S. Current progress in study of mucosal organs. *Приднепровский научный вестник*. 2020; Vol. 2; №11 (elibrary Том 11; № 2): 7-23. ISSN 1561-6940.
8. Лахтин В.М., Лахтин М.В., Алешкин В.А. Смешанные ассоциаты и минибиопленки в связи с патологиями в

мукозальных биотопах: подходы, прогресс и перспективы для медицинских биотехнологий. Известия ГГТУ. Медицина, фармация. 2020; № 4: 164-7. ISSN 2687-1521.

9. Лахтин В.М., Лахтин М.В., Байракова А.Л. и др. Распознающие метаболитные системы пробиотических ми-

кроорганизмов вместо пробиотиков и вместе с ними // Уральский научный вестник. - 2022. - Vol. 1; № 7 (elibrary Том 7; № 1). - С. 3-28. ISSN 1561-6908.

ШТАММЫ МИКРОМИЦЕТОВ С АНТАГОНИСТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ В ОТНОШЕНИИ БАКТЕРИИ *BACILLUS CEREUS*

Лиховидов В.Е.¹, Александрова А.В.², Юскевич В.В.³

¹Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Московская область

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

³Научно-производственный центр «МикроМир», Любучаны, Московская область

Спорообразующая, грамположительная бактерия *Bacillus cereus* широко распространена в природе и известна своими явно выраженными патогенными свойствами. Эта бактерия может вызывать у человека множество патологий: инфекции в желудочно-кишечном тракте и за его пределами; системные инфекции (менингит, бронхопневмония, остеомиелит, миокардит, абсцесс мозга, паноптальмит, эндокардит, сепсис, септицемия и др.). [1,2]. Поэтому поиск антагонистов *Bacillus cereus* среди микромицетов и разработка на их основе бактерицидных средств является актуальной задачей медицинской биотехнологии.

Грибы из коллекции «ГКПМ - Оболенск» выращивали на плотной питательной среде ММС, которая является достаточно богатой и стандартизованной средой [3]. Состав среды (г/л): NaNO₃ — 2,0; KCL — 0,5; FeSO₄ × 7H₂O — 0,01; MgSO₄ × 7H₂O — 0,5; KHPO₄ — 1,0; глюкоза — 10,0; мальтоза — 10,0; мясной пептон — 5,0; дрожжевой экстракт — 5,0; бактериальный агар — 15,0; гентамицин — 0,04 мг/мл. Конечное значение pH — 7,3 ± 0,2. Тестируемые

штаммы культивировали в течение 5 - 13 дней в термостате при температуре (24 + 0,5) °С. Затем из агара с исследуемой культурой гриба пробочным сверлом вырезали блоки диаметром 7 мм и помещали на засеянные и подсушенные газоны тест-культуры.

В качестве тест-объекта для изучения штаммов микромицетов на наличие антагонистических свойств использовали культуру *B. cereus* B-1447. Опытным путем подобрали концентрацию микроба для получения на чашках Петри сплошного, но не густого газона. Стандартизацию проводили по шкале McFarlanda, используя стандарты мутности. Суспензии суточной тест – культуры плотностью 106 кл/мл высевали на чашки Петри диаметром 90 мм по 0,2 мл, растирали шпателем для получения однородного газона и оставляли на 30 мин для полного впитывания в агар.

Из исследованных 245 штаммов мицелиальных грибов выявлено наличие активности у 95 культур, которые относятся к 56 видам 25 родов.

Таблица (с. 201). Микромицеты, проявляющие антагонистическую активность в отношении *Bacillus cereus*.

Как видно из данных, представленных в таблице, самые высокие зоны подавления роста бактериального патогена отмечены у микромицетов в родах *Aspergillus*, *Beauveria*, *Clonostachys*, *Oedocephalum*, *Penicillium*, *Simplicillium*, *Trichoderma*. Исследования Семёновой и Семёнова подтверждают также способность гриба *Trichoderma viride* подавлять развитие культуры *B. cereus* в почвенных моделях бинарных культур [4]. Штаммы микромицетов *Penicillium chrysogenum*, *P. simplicissimum*, *P. citrinum*, *Aspergillus viridinutans*, *A. janus*, *Fusarium heterosporous*, *Trichoderma hamatum*, *T. longibrachiatum* являются наиболее перспективными для дальнейшего изучения в качестве продуцентов БАПС с бактерицидными свойствами в отношении бактерии *Bacillus cereus*.

Список литературы

1. Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов. / Санитарные правила и нормы (СанПиН 2.3.2.560-96). - М., 1997.
2. Медицинская микробиология. / О.К. Позднеев // Москва, ГЭОТАР- МЕД, 2001. 778 с
3. Володина Л.И. Полевые сборы и выделение в культуру микромицетов-потенциальных продуцентов биологически активных веществ / Л.И. Володина, В.Е. Лиховидов, Ф.Ш. Исангалин, А.Н. Наумов. // Матер. УП межгосуд. научн.-практ. конф. государств-участников СНГ: "Чрезвычайные ситуации международного значения в общественном здравоохранении в решениях Санкт-Петербургского саммита "Группы восьми" и санитарная охрана территорий государств-участников СНГ". - Оболенск. - 2006. - С. 189-190.

Род	Вид	Кол-во штаммов		Диаметр зоны подавления (среднее значение, мм)	
		Изученных	Активных		
<i>Alternaria</i>	<i>A. alternata</i>	7	1	11	
<i>Aspergillus</i>	<i>A. aculeatus</i>	1	1	12	
	<i>A. flavipes</i>	2	1	20	
	<i>A. janus</i>	1	1	23	
	<i>A. melleus</i>	1	1	12	
	<i>A. ustus</i>	3	1	12	
	<i>A. versicolor</i>	2	2	10 - 17	
	<i>A. viridinutans</i>	1	1	25	
	<i>B. bassiana</i>	6	1	21	
<i>Chaetomium</i>	<i>C. sp.</i>	5	1	10	
<i>Clonostachys</i>	<i>C. candelabrum</i>	5	5	16 - 20	
	<i>C. berkeleyana</i>	1			
<i>Cosmospora</i>	(syn. <i>Acremonium berkeleyanum</i>)		1	15	
<i>Cordyceps</i>	<i>C. sp.</i>	3	1	11	
<i>Curvularia</i>	<i>C. geniculata</i>	1	1	15	
<i>Cylindrocarpon</i>	<i>C. destructans</i>	1	1	15	
<i>Fusarium</i>	<i>F. heterosporum</i>	2	2	20 - 27	
	<i>F. merismoides</i>	2	1	12	
	<i>F. oxysporum</i>	7	6	14 - 20	
	<i>F. sacchari</i>	1	1	20	
	<i>F. sambucinum</i>	2	1	15	
	<i>F. solani</i>	2	2	10 - 14	
	<i>F. verticillioides</i>	1	1	15	
	<i>M. sp.</i>	1	1	11	
<i>Mariannaea</i>	<i>M. elegans var. elegans</i>	2	1	16	
<i>Metarhizium</i>	<i>M. anisopliae</i>	1	1	10	
<i>Microdochium</i>	<i>M. bolleyi</i>	1	1	15	
<i>Oedocephalum</i>	<i>O. glomerulosum</i>	1	1	20	
<i>Purpureocillium</i>	<i>P. lilacinum</i>				
	(syn. <i>Paecilomyces lilacinus</i>)	4	2	10 - 15	
<i>Penicillium</i>	<i>P. brevicompactum</i>	3	1	25	
	<i>P. chrysogenum</i>	1	1	30	
	<i>P. citrinum</i>	4	4	12 - 25	
	<i>P. islandicum</i>	1	1	13	
	<i>P. ochrochloron</i>	1	1	16	
	<i>P. purpurogenum</i>	6	1	15	
	<i>P. simplicissimum</i>	2	1	25	
	<i>P. turdölense</i>	1	1	13	
	<i>P. vulpinum</i>	1	1	22	
	<i>P. westlingii</i>	1	1	10	
	<i>P. boydii</i>	2	2	9 - 10	
	<i>S. lqmellicola</i>	1	1	20	
	<i>Stachybotrys</i>	<i>S. chartarum</i>	3	3	12 - 15
	<i>Taijlangaria</i>	<i>T. sp.</i>	2	1	9
<i>Thysanophora</i>	<i>T. penicillioides</i>	1	1	13	
<i>Tolyposcladium</i>	<i>T. cylindrosporium</i>	2	1	16	
	<i>T. inflatum</i>	2	1	15	
<i>Torrubjella</i>	<i>T. homopterorum</i>	1	1	15	
<i>Trichoderma</i>	<i>T. asperellum</i>	9	9	11 - 30	
	<i>T. citrinoviride</i>	5	5	11 - 20	
	<i>T. ghanense</i>	1	1	14	
	<i>T. hamatum</i>	3	3	13 - 25	
	<i>T. harzianum</i>	9	6	11 - 20	
	<i>T. koningii</i>	1	1	10	
	<i>T. longibrachiatum</i>	2	2	14 - 25	
	<i>T. polysporum</i>	1	1	10	
	<i>T. virens</i>	1	1	18	
	<i>T. sp.</i>	1	1	12	

	<i>F. oxysporum</i>	7	6	14 - 20	
	<i>F. sacchari</i>	1	1	20	
	<i>F. sambucinum</i>	2	1	15	
	<i>F. solani</i>	2	2	10 - 14	
	<i>F. verticillioides</i>	1	1	15	
<i>Malbranchea</i>	<i>M. sp.</i>	1	1	11	
<i>Mariannaea</i>	<i>M. elegans var. elegans</i>	2	1	16	
<i>Metarhizium</i>	<i>M. anisopliae</i>	1	1	10	
<i>Microdochium</i>	<i>M. bolleyi</i>	1	1	15	
<i>Oedocephalum</i>	<i>O. glomerulosum</i>	1	1	20	
<i>Purpureocillium</i>	<i>P. lilacinum</i>				
	(syn. <i>Paecilomyces lilacinus</i>)	4	2	10 - 15	
<i>Penicillium</i>	<i>P. brevicompactum</i>	3	1	25	
	<i>P. chrysogenum</i>	1	1	30	
	<i>P. citrinum</i>	4	4	12 - 25	
	<i>P. islandicum</i>	1	1	13	
	<i>P. ochrochloron</i>	1	1	16	
	<i>P. purpurogenum</i>	6	1	15	
	<i>P. simplicissimum</i>	2	1	25	
	<i>P. turdölense</i>	1	1	13	
	<i>P. vulpinum</i>	1	1	22	
	<i>P. westlingii</i>	1	1	10	
	<i>P. boydii</i>	2	2	9 - 10	
	<i>S. lqmellicola</i>	1	1	20	
	<i>Stachybotrys</i>	<i>S. chartarum</i>	3	3	12 - 15
	<i>Taijlangaria</i>	<i>T. sp.</i>	2	1	9
<i>Thysanophora</i>	<i>T. penicillioides</i>	1	1	13	
<i>Tolyposcladium</i>	<i>T. cylindrosporium</i>	2	1	16	
	<i>T. inflatum</i>	2	1	15	
<i>Torrubjella</i>	<i>T. homopterorum</i>	1	1	15	
<i>Trichoderma</i>	<i>T. asperellum</i>	9	9	11 - 30	
	<i>T. citrinoviride</i>	5	5	11 - 20	
	<i>T. ghanense</i>	1	1	14	
	<i>T. hamatum</i>	3	3	13 - 25	
	<i>T. harzianum</i>	9	6	11 - 20	
	<i>T. koningii</i>	1	1	10	
	<i>T. longibrachiatum</i>	2	2	14 - 25	
	<i>T. polysporum</i>	1	1	10	
	<i>T. virens</i>	1	1	18	
	<i>T. sp.</i>	1	1	12	

ГРИБКОВО-БАКТЕРИАЛЬНЫЕ АССОЦИАЦИИ НА СЛИЗИСТОЙ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ.

Лисовская С.А.^{1,2,3}, Сафина Л.Ф.^{1, 3}, Каюмов А.Р.³, Романченко Ю.И.²

¹ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора

²ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Министерства здравоохранения РФ

³Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, г. Казань, РФ

Принято считать, что причинами частых респираторных инфекций является дисфункция иммунной системы [1,2]. Однако, полость рта представляет собой своеобразную экологическую систему, которая тесно связана с внутренней средой организма и его внешним окружением. Поэтому возникает необходимость рассматривать проблему с позиции оценки микробиоты верхних дыхательных путей и реализации её возможного патогенного влияния на организм человека. Внедрение современных технологий изучения микробиома человека, позволило получить информацию о сложности микробных сообществ в этом локусе [3,4]. Представители аутохтонной и транзитной микрофлоры носоглоточного локуса могут продуцировать медиаторы, ответственные за реакции гиперчувствительности немедленного типа. Считается, что воспаление при хронических заболеваниях респираторного тракта интенсивно поддерживается дисбиотическими нарушениями на слизистых оболочках дыхательных путей. Персистирующая бактериальная и грибковая инфекции – один из важнейших факторов в развитии хронической патологии дыхательной системы. Бронхиальная астма является одним из самых частых хронических заболеваний легких. В нашей стране по данным эпидемиологического исследования 2014 г. распространенность бронхиальной астмы среди взрослых составила 6,9% [5,6].

Целью исследования являлось изучение микробиома слизистой ротовой полости в норме (группа «условно здоровых лиц») и при патологии (пациенты с диагнозом бронхиальная астма).

В ходе исследования обследовано 50 пациентов, составляющие взрослое население, в возрасте от 18 до 66 лет, 24 из которых являлись здоровыми донорами. Все больные обследованы в период обострения заболевания. Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с этическими нормами. На каждого больного и испытуемого из группы «условно здоровые лица» заполнялась индивидуальная регистрационная карта. Микробиологическое исследование образцов слизистой ротовой полости проводилось классическими микробиологическими методами, выделение чистой культуры на селективных и дифференциально-диагностических средах и идентификация видов микроорганизмов по общепринятым биохимическим и ферментативным свойствам. Идентификацию грибов осуществляли с помощью коммерческой тест-системы: «Auxacolor 2» (Bio-Rad).

Сформированы группы пациентов:

1. Группа «условно здоровые лица» (УЗЛ), взрослое население (возраст 18 - 44 лет, 45-60 и старше 60)

2. Группа пациентов с диагнозом бронхиальная астма (БА), взрослое население (возраст 18 - 44 лет, 45-60 и старше 60).

Удельный вес бактериальной микрофлоры для группы пациентов «условно здоровых лиц» составлял более 2/3 от числа выделенных культур микроорганизмов. Причем подавляющее большинство было представлено грамполо-

жительными кокками (96 %), 51,0 % являлись представителями рода *Staphylococcus* и 49,0 % *Streptococcus*. Стоит отметить, что у пациентов группы «условно здоровые лица» в 45,85 образцах со слизистых присутствовала грибковая микрофлора, где основным представителем являлся дрожжевой грибок *Candida albicans* (81,8% от количества грибковых изолятов). Среди микромицетов встречались виды: *S. parapsilosis*, *S. tropicalis*. Анализ микробного биоценоза полости рта у пациентов с диагнозом «бронхиальная астма», показал, что микробный пейзаж был представлен полимикробной флорой и включал в себя как условно-патогенные бактерии, так и микроскопические грибы. Ведущими представителями бактериальной флоры: грамположительные - *Streptococcus* spp., грамотрицательные - *Klebsiella* spp. Лидером грибковой флоры оставался вид *S. albicans*. Однако, процент встречаемости видов non-albicans вырос в два раза. Стоит отметить, что в 81% случаях условно-патогенные микроорганизмы, в данной группе, высевались в микробиологических посевах в этиологически значимых количествах >104 – 105 КОЕ/тамп. Оценка состава микробных ассоциаций в группе 2 показала, что грибково-бактериальные ассоциации доминировали над бактериальными, причем у пациентов старше 60 лет бактериальные ассоциации отсутствовали.

Таким образом, сравнительный анализ микробного биоценоза слизистой ротовой полости двух основных групп среди взрослого населения: в норме (группа «условно здоровых лиц») и при патологии (пациенты с диагнозом бронхиальная астма), показал отличия в частоте встречаемости условно-патогенных видов микроорганизмов и количестве участников микробных ассоциаций. В группе 2 (бронхиальная астма) микроскопические грибы встречались в 88% случаев, что в 3,5 раза чаще, чем в группе «условно здоровые лица», где процент встречаемости составил 25%.

Список литературы

1. Самсыгина Г.А., Выжлова Е.Н. Ещё раз о проблемах понятия «часто болеющие дети». Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2016; 95(4): 209-15.
2. Чеботарёва Т.А., Мазанкова Л.Н., Хоперскова А.П., Малиновская В.В., Кольцов В.Д., Брагина Г.С. Рекуррентные инфекции органов дыхания у детей и программы иммунореабилитации. Детские инфекции. 2014; (3): 61-4
3. Teo S.M., Mok D., Pham K., Kusel M., Serralha M., Troy N., et al. The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of lower respiratory infection and risk of asthma development. Cell Host Microbe. 2015; 17(5): 704-15. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.03.008>
4. Dickson R.P., Martinez F.J., Huffnagle G.B. The role of the microbiome in exacerbations of chronic lung diseases. Lancet. 2014; 384(9944): 691-702. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61136-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61136-3)
5. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (GINA), updated 2019.

6. Chuchalin A.G. Chronic respiratory diseases and risk factors in 12 regions of the Russian Federation / A.G. Chuchalin, N. Khaltaev, N. Antonov // International Journal of COPD. –2014. –Vol. 9. –P.963–974.

ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ И ООМИЦЕТЫ КАК ХОЗЯЕВА И ПЕРЕНОСЧИКИ ВИРОИДОВ

Мироненко Н.В., Хютти А.В., Лашина Н.М., Афанасенко О.С.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин

Самые мелкие патогены растений – вириды. Это необычные загадочные сущности, которые нельзя назвать живыми существами, хотя они обладают некоторыми признаками жизни. Вириды представляют собой ковалентно замкнутые кольцевые молекулы однонитевой РНК размером ~250-430 нуклеотидов, которые способны автономно реплицироваться в клетках своих хозяев, распространяться по всем органам хозяина и иногда вызывать симптомы болезни. Основные признаки виридов: кольцевая структура, высокая самокомплементарность, объясняющая существование компактных вторичных структур с двухцепочечными участками и одноцепочечными петлями; репликация по типу «катящегося кольца» (rolling circle replication); и, что наиболее важно, отсутствие участков РНК, кодирующих какие-либо белки (Diener, 1971; Hadidi et al., 2017; Flores et al., 2014).

До последнего времени считали, что хозяевами виридов являются высшие растения – овощные и плодово-ягодные культуры и цветы. Впервые вириод был обнаружен на картофеле, как возбудитель готической болезни, в 1971 году Теодором Динером (Diener, 1971) и назван вириодом веретенковидности клубней картофеля (ВВКК или PSTVd).

Вириды передаются вертикально, т.е. через семена и при вегетативном размножении растений и горизонтально – от одного растения другому с помощью насекомых (тлей), механически и через пыльцу. Принимая во внимание тот факт, что растения поражаются множеством других организмов, включая грибы и оомицеты, в процессе коэволюции хозяина и его паразитов последние могли приобрести способность переносить вириды, сохраняя их и, возможно, одновременно быть их хозяевами, т.е. обеспечивать репликацию виридов.

В 2011 году была опубликована первая работа, в которой утверждалась возможность репликации вириода ASBVd (avocado sunblotch viroid) в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* (Delan-Forino et al., 2011), которая также была подтверждена для вириода PSTVd (potato spindle tuber viroid) (Friday et al., 2017). Совсем недавно было показано, что вириды семи видов способны реплицироваться в искусственно инокулированных фитопатогенных аскомицетных мицелиальных грибах – *Valsa mali*, *Cryphonectria parasitica*, и *Fusarium graminearum*, возбудителях язвы у деревьев яблони, каштановой гнили и пятнистости колосьев пшеницы и гнили кукурузного початка, соответственно (Wei et al., 2019). В большинстве случаев инфицирование вириодом не вызывало симптомов у грибов, хотя для *Valsa mali* отмечали уменьшение скорости роста и вирулентности при заражении вириодом HSVd (hop stunt viroid). Также в этой работе показано, что вириды могут передаваться горизонтально между фитопатогенными аскомицетами через слияние гиф и вертикально посредством конидий. Впервые был отмечен факт передачи вириода от искус-

ственно инфицированного штамма *Fusarium graminearum* растениям *Nicotiana benthamiana* в результате их инокуляции грибом (Wei et al., 2019).

Таким образом, круг возможных хозяев виридов расширился. В научной литературе родился новый термин «микровириды» (Sun, Hadidi, 2022).

Тот факт, что фитопатогенные грибы тесно контактируют с растением-хозяином в процессе инфицирования, дает им возможность быть переносчиками виридов. Следует отметить, что двунаправленный перенос между растениями и фитопатогенными грибами известен также для некоторых вирусов растений (Andika et al., 2017).

Логично было предположить, что фитопатогенные оомицеты также могут быть переносчиками и хозяевами виридов. В лаборатории иммунитета растений к болезням Всероссийского НИИ защиты растений проведены пионерские исследования патосистемы «*Solanum tuberosum* – *Phytophthora infestans* – PSTVd» совместно с японскими коллегами в рамках международного проекта РФФ.

Впервые в лабораторных условиях была доказана передача вириода от зараженных PSTVd растений картофеля и томата патогену *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary и от *Phytophthora infestans* к растениям картофеля и томата (Afanasenko et al., 2022).

Была поставлена задача тестировать гипотезу, что в ходе длительной коэволюции паразита и хозяина в патосистеме *Solanum spp.* – *P. infestans* патоген картофеля PSTVd может передаваться другому патогену – возбудителю фитофтороза, сохраняться и размножаться в нем в естественных условиях. Методом ОТ-ПЦР с праймерами специфичными для PSTVd и семейства виридов *Pospoviroidea*, были тестированы 111 полевых изолятов *P. infestans*; у 72% изолятов обнаружены диагностические продукты амплификации. Диагностические ампликоны у восьми изолятов были клонированы и секвенированы. Все клоны, кроме одного, были идентифицированы по сходству с последовательностями, представленными в GenBank, как PSTVd (Мироненко и др., 2022). В одном клоне был выявлен вириод *Chrysanthemum stunt viroid* (CSV), тоже относящийся к сем. *Pospiviroidea*. CSV поражает растения сем. *Compositae* и *Solanaceae*, недавно обнаружен в растениях картофеля (Matsushita et al., 2021).

В данной работе мы провели анализ нуклеотидных последовательностей потомства (клонов) штаммов PSTVd, выявленных в изолятах *P. infestans* методом RT-PCR с помощью праймеров 6PospIF/R (Yanagesawa et al., 2017), специфичных для виридов сем. *Pospiviroidea*. Полученные продукты амплификации составляли часть генома PSTVd (позиции 17-277 н. относительно референсного штамма VP35 (LC523658)), размером 260 н.

Выявлены различия в нуклеотидной последовательности клонов, полученных в ОТ-ПЦР продуктов ам-

плификации PSTVd в виде вставок, делеций и замен нуклеотидов.

У 13 клонов, идентифицированных как PSTVd, полученных от пяти изолятов *P. infestans*, было выявлено 75 мутаций, которые распределились следующим образом: 42 мутации – это однонуклеотидные замены (25 замен нуклеотидов U→C, 4 C→T, 7 замен G→U, 6 замен G→A), 8 - однонуклеотидные делеции, 25 - однонуклеотидные вставки (12 A и 13C). Для «фитофторных» штаммов PSTVd оказалось характерным наличие нуклеотидных вставок в следующих позициях, относительно референсного штамма: 49+A, 117+A и 140+C, 145+C, которые были обнаружены у штаммов, выделенных у 4-х изолятов *P. infestans* из 5 проанализированных.

В работе Wei et al. (2020) было показано, что после восьми пересевов грибов *Fusarium graminearum* и *Cryphonectria parasitica*, искусственно зараженных вириодами HSVd и ASBVd, соответственно, в субкультурах грибов методом ОТ-ПЦР были получены продукты амплификации геномов этих вириодов, которые отличались нуклеотидными заменами от использованного при первичном заражении штамма вириода.

Полученные нами данные о высокой генетической изменчивости штаммов PSTVd в природных изолятах оомицета *P. infestans* подтверждают и дополняют гипотезу Wei et al. (2020), что эволюция и адаптация вириодов может происходить в процессе размножения в грибах и оомицетах.

Обнаружение в изоляте *P. infestans* другого вида сем. Pospiviroidae - вириода CSV, свидетельствует о потенциальных возможностях *P. infestans*, и, возможно, других оомицетов и мицелиальных грибов, быть хозяином одновременно нескольких видов вириодов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-46-07001.

Список литературы

1. Afanasenko O.S., A.V. Khiutti, Mironenko N.V., Lashina N.M. Transmission of potato spindle tuber viroid between *Phytophthora infestans* and host plants. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022, 26(3):271-280.
2. Andika I.B., Wei S., Cao C., Salaipeth L., Kondo H., Sun L. Phytopathogenic fungus hosts a plant virus: A naturally occurring cross-kingdom viral infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2017, 114:12267–12272.
3. Delan-Forino C., Maurel M.C., Torchet C. Replication of avocado sunblotch viroid in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Virol*. 2011, 85: 3229–3238.
4. Diener T. O. Potato Spindle Tuber “virus”. IV. A replicating, low molecular weight RNA. *Virology*. 1971, 45:411–28.
5. Flores R., Gago-Zachert S., Serra P., Sanjuan R. et al. Viroids: Survivors from the RNA World? *Annu. Rev. Microbiol*. 2014, 68:395–414.
6. Friday D., Mukkara P., Owens R.A., Baumstark T., Bruist M.F. Processing of potato spindle tuber viroid RNAs in yeast, a nonconventional host. *J. Virol*. 2017, 91, e01078-17.
7. Hadidi A., Flores R., Randles J.W., Palukaitis P. (Eds.) *Viroids and Satellites*; Academic Press: Oxford, UK; Elsevier: Cambridge, MA, USA, 2017; 716 p.
8. Matsushita Y., Yanagisawa H., Khiutti, A., Mironenko N., Ohto Y., Afanasenko O. Genetic diversity and pathogenicity of potato spindle tuber viroid and chrysanthemum stunt viroid isolates in Russia. *European Journal of Plant Pathology*. 2021; 161(8): 529–542.
9. Sun L., Hadidi A. Mycoviroids: Fungi as Hosts and Vectors of Viroids. *Cells*. 2022, 11, 1335.
10. Wei Sh., Bian R., Andika I.B. et al. Symptomatic plant viroid infections in phytopathogenic fungi. *Proc. Nat. Acad. Sci*. 2019, 116(26):13042–13050.
11. Wei S., Bian R., Andika I. B. et al. Nucleotide substitutions in plant viroid genomes that multiply in phytopathogenic fungi. *Proc. Nat. Acad. Sci*. 2020, 117(19):10129–10130.
12. Yanagisawa H., Shiki Y., Matsushita Y. et al. Development of a comprehensive detection and identification molecular based system for eight pospiviroids. *European Journal of Plant Pathology*. 2017, 149:11–23.
13. Мироненко Н.В., Хютти А.В., Кырова Е.И., Белов Д. А., Афанасенко О.С.. Первое обнаружение вириода веретеновидности клубней картофеля в природных изолятах возбудителя фитофтороза картофеля *Phytophthora infestans*. *Микология и фитопатология*. 2022, 56(4):284–293.

ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ И ООМИЦЕТЫ КАК ХОЗЯЕВА И ПЕРЕНОСЧИКИ ВИРОИДОВ

Мироненко Н.В., Хютти А.В., Лашина Н.М., Афанасенко О.С.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин

Самые мелкие патогены растений – вириды. Это необычные загадочные сущности, которые нельзя назвать живыми существами, хотя они обладают некоторыми признаками жизни. Вириды представляют собой ковалентно замкнутые кольцевые молекулы однонитевой РНК размером ~250-430 нуклеотидов, которые способны автономно реплицироваться в клетках своих хозяев, распространяться по всем органам хозяина и иногда вызывать симптомы болезни. Основные признаки виридов: кольцевая структура, высокая самокомплементарность, объясняющая существование компактных вторичных структур с двухцепочечными участками и одноцепочечными петлями; репликация по типу «катящегося кольца» (rolling circle replication); и, что наиболее важно, отсутствие участков РНК, кодирующих какие-либо белки (Diener, 1971; Hadidi et al., 2017; Flores et al., 2014).

До последнего времени считали, что хозяевами виридов являются высшие растения – овощные и плодово-ягодные культуры и цветы. Впервые вириод был обнаружен на картофеле, как возбудитель готической болезни, в 1971 году Теодором Динером (Diener, 1971) и назван вириодом веретеновидности клубней картофеля (ВВКК или PSTVd).

Вириды передаются вертикально, т.е. через семена и при вегетативном размножении растений и горизонтально – от одного растения другому с помощью насекомых (тлей), механически и через пыльцу. Принимая во внимание тот факт, что растения поражаются множеством других организмов, включая грибы и оомицеты, в процессе коэволюции хозяина и его паразитов последние могли приобрести способность переносить вириды, сохраняя их и, возможно, одновременно быть их хозяевами, т.е. обеспечивать репликацию виридов.

В 2011 году была опубликована первая работа, в которой утверждалась возможность репликации вириода ASBVd (avocado sunblotch viroid) в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* (Delan-Forino et al., 2011), которая также была подтверждена для вириода PSTVd (potato spindle tuber viroid) (Friday et al., 2017). Совсем недавно было показано, что вириды семи видов способны реплицироваться в искусственно инокулированных фитопатогенных аскомицетных мицелиальных грибах - *Valsa mali*, *Cryphonectria parasitica*, и *Fusarium graminearum*, возбудителях усыхания плодовых, пятнистости каштанов и фузариоза колоса пшеницы и гнили кукурузного початка, соответственно (Wei et al., 2019). В большинстве случаев инфицирование вириодом не вызывало симптомов у грибов, хотя для *Valsa mali* отмечали уменьшение скорости роста и вирулентности при заражении вириодом HSVd (hop stunt viroid). Также в этой работе показано, что вириды могут передаваться горизонтально между фитопатогенными аскомицетами через слияние гиф и вертикально посредством конидий. Впервые был отмечен факт передачи вириода от искусственно инфицированного штамма *Fusarium graminearum* растениям *Nicotiana benthamiana* в результате их инокуляции грибом (Wei et al., 2019).

Таким образом, круг возможных хозяев виридов расширился. В научной литературе родился новый термин «микровириды» (Sun, Hadidi, 2022).

Тот факт, что фитопатогенные грибы тесно контактируют с растением-хозяином в процессе инфицирования, дает им возможность быть переносчиками виридов. Следует отметить, что двунаправленный перенос между растениями и фитопатогенными грибами известен также для некоторых вирусов растений (Andika et al., 2017).

Логично было предположить, что фитопатогенные оомицеты также могут быть переносчиками и хозяевами виридов. В лаборатории иммунитета растений к болезням Всероссийского НИИ защиты растений проведены пионерские исследования патосистемы «*Solanum tuberosum* – *Phytophthora infestans* – PSTVd» совместно с японскими коллегами в рамках международного проекта РФФ.

Впервые в лабораторных условиях была доказана передача вириода от зараженных PSTVd растений картофеля и томата патогену *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary и от *Phytophthora infestans* к растениям картофеля и томата (Afanasenko et al., 2022).

Была поставлена задача тестировать гипотезу, что в ходе длительной коэволюции паразита и хозяина в патосистеме *Solanum spp.* – *P. infestans* патоген картофеля PSTVd может передаваться другому патогену – возбудителю фитофтороза, сохраняться и размножаться в нем в естественных условиях. Методом ОТ-ПЦР с праймерами специфичными для PSTVd и семейства виридов *Pospoviroidea*, были протестированы 111 полевых изолятов *P. infestans*; у 72% изолятов обнаружены диагностические продукты амплификации. Диагностические ампликоны у восьми изолятов были клонированы и секвенированы. Все клоны, кроме одного, были идентифицированы по сходству с последовательностями, представленными в GenBank, как PSTVd (Мироненко и др., 2022). В одном клоне был выявлен вириод *Chrysanthemum stunt viroid* (CSV), тоже относящийся к сем. *Pospiviroidae*. CSV поражает растения сем. *Compositae* и *Solanaceae*, недавно обнаружен в растениях картофеля (Matsushita et al., 2021).

В данной работе мы провели анализ нуклеотидных последовательностей потомства (клонов) штаммов PSTVd, выявленных в изолятах *P. infestans* методом RT-PCR с помощью праймеров 6Pospif/R (Yanagesawa et al., 2017), специфичных для виридов сем. *Pospiviroidae*. Полученные продукты амплификации составляли часть генома PSTVd (позиции 17-277 н. относительно референсного штамма VP35 (LC523658)), размером 260 н.

Выявлены различия в нуклеотидной последовательности клонов, полученных в ОТ-ПЦР продуктов амплификации PSTVd в виде вставок, делеций и замен нуклеотидов.

У 13 клонов, идентифицированных как PSTVd, полученных от пяти изолятов *P. infestans*, было выявлено 75 мутаций, которые распределились следующим образом: 42 мутации – это однонуклеотидные замены (25 замен нуклеотидов U→C, 4 C→T, 7 замен G→U, 6 замен G→A), 8 - однонуклеотидные делеции, 25 - однонуклеотидные

вставки (12 А и 13С). Для «фитофторных» штаммов PSTVd оказалось характерным наличие нуклеотидных вставок в следующих позициях, относительно референсного штамма: 49+А, 117+А и 140+С, 145+С, которые были обнаружены у штаммов, выделенных у 4-х изолятов *P.infestans* из 5 проанализированных.

В работе *Wei et al.* (2020) было показано, что после восьми пересевов грибов *Fusarium graminearum* и *Cryphonectria parasitica*, искусственно зараженных виридами HSVd и ASBVd, соответственно, в субкультурах грибов методом ОТ-ПЦР были получены продукты амплификации геномов этих виридов, которые отличались нуклеотидными заменами от использованного при первичном заражении штамма вириода.

Полученные нами данные о высокой генетической изменчивости штаммов PSTVd в природных изолятах оомицета *P. infestans* подтверждают и дополняют гипотезу *Wei et al.* (2020), что эволюция и адаптация виридов может происходить в процессе размножения в грибах и оомицетах.

Обнаружение в изоляте *P. infestans* другого вида сем. *Pospiviroidae* - вириода CSV, свидетельствует о потенциальных возможностях *P. infestans*, и, возможно, других оомицетов и мицелиальных грибов, быть хозяином одновременно нескольких видов виридов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-46-07001.

Список литературы

1. Afanasenko O.S., A.V. Khiutti, Mironenko N.V., Lashina N.M. Transmission of potato spindle tuber viroid between *Phytophthora infestans* and host plants. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022, 26(3):271-280.
2. Andika I.B., Wei S., Cao C., Salapeth L., Kondo H., Sun L. Phytopathogenic fungus hosts a plant virus: A naturally occurring cross-kingdom viral infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2017, 114:12267–12272.
3. Delan-Forino C., Maurel M.C., Torchet C. Replication of avocado sunblotch viroid in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Virol*. 2011, 85: 3229–3238.
4. Diener T. O. Potato Spindle Tuber “virus”. IV. A replicating, low molecular weight RNA. *Virology*. 1971, 45:411–28.
5. Flores R., Gago-Zachert S., Serra P., Sanjuan R. et al. Viroids: Survivors from the RNA World? *Annu. Rev. Microbiol.* 2014, 68:395–414.
6. Friday D., Mukkara P., Owens R.A., Baumstark T., Bruist M.F. Processing of potato spindle tuber viroid RNAs in yeast, a nonconventional host. *J. Virol.* 2017, 91, e01078-17.
7. Hadidi A., Flores R., Randles J.W., Palukaitis P. (Eds.) *Viroids and Satellites*; Academic Press: Oxford, UK; Elsevier: Cambridge, MA, USA, 2017; 716 p.
8. Matsushita Y., Yanagisawa H., Khiutti A., Mironenko N., Ohto Y., Afanasenko O. Genetic diversity and pathogenicity of potato spindle tuber viroid and chrysanthemum stunt viroid isolates in Russia. *European Journal of Plant Pathology*. 2021; 161(8): 529–542.
9. Sun L., Hadidi A. Mycoviroids: Fungi as Hosts and Vectors of Viroids. *Cells*. 2022, 11, 1335.
10. Wei Sh., Bian R., Andika I.B. et al. Symptomatic plant viroid infections in phytopathogenic fungi. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2019, 116(26):13042–13050.
11. Wei S., Bian R., Andika I. B. et al. Nucleotide substitutions in plant viroid genomes that multiply in phytopathogenic fungi. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2020, 117(19):10129–10130.
12. Yanagisawa H., Shiki Y., Matsushita Y. et al. Development of a comprehensive detection and identification molecular based system for eight pospiviroids. *European Journal of Plant Pathology*. 2017, 149:11–23.
13. Мироненко Н.В., Хютти А.В., Кырова Е.И., Белов Д. А., Афанасенко О.С.. Первое обнаружение вириода веретеновидности клубней картофеля в природных изолятах возбудителя фитофтороза картофеля *Phytophthora infestans*. *Микология и фитопатология*. 2022, 56(4):284–293.

ЭНДОБИОНТЫ ГРИБКОВЫХ КЛЕТОК КАК ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СИМБИОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕОРИИ

Мурадова С.А., Гурбанов А.И., Гурбанова С.Ф.

Азербайджанский Медицинский Университет, Кафедра медицинской микробиологии и иммунологии, Баку

В предыдущих исследованиях мы сообщали, что при росте некоторых штаммов грибов рода *Candida* на питательной среде Сабуро, при посеве их газоном, наблюдаются стерильные зоны – зоны лизиса. При исследовании причины зон лизиса были выявлены подвижные бактерии (бделловибриноподобные организмы, *Bdellovibrio-like organisms* - BLO) в вакуолях *C.albicans*, так же было изучено взаимодействие между этими микроорганизмами.

Целью настоящего исследования явилось обнаружение эндобионтов у представителей грибов рода *Candida*, а также других дрожжевых грибов. Нами было изучено 51 штаммов *C.albicans*, 13 штаммов *C.kruseii*, 2 *C.dubliniensis*, 13 *C.tropicalis*, 3 *C.pseudotropicalis*, 2 *C.guilliermondii*, 3 *C.parapsilosis*, 2 *C.inconspicua*, 3 *C.glabrata* и 5 штаммов *Stephanoascus ciferrii*, а так же 11 неидентифицированных дрожжевых грибов, выделенных от больных преимущественно с респираторными, пищеварительными и мочеполовыми заболеваниями. Так же исследованы эта-

лонные штаммы *C.albicans* РКПГУ-401/885-653, *C.glabrata* РКПГУ-1188, *C.kruseii* РКПГУ-526, *C.tropicalis* РКПГУ-531, в том числе и 5 неидентифицированных штаммов, выделенных из окружающей среды, а также культуры *S.cerevisiae* и *S.boulardii*.

Выяснилось, что во всех (в 100% случаях) изученных культурах грибов *Candida*, выделенных из разных биотопов, обнаружены эндосимбионты или эндобактерии (эндобионты), при этом они не вызывают лизиса клеток грибов. Эндобактерии (ЭБ) не уничтожают клетки-хозяина сразу как BLO, а способствуют их более длительному существованию в неблагоприятной среде. Формирование симбиоза между ЭБ, дрожжами и дрожжеподобными грибами является результатом эволюции.

Ключевые слова: грибы рода *Candida*, эндобионты.

Введение. В 2015 году мы предоставили результаты исследования оптического и электронного (ТЭМ) микроскопов о взаимодействии бделловибриноподобных орга-

низмов (*Bdellovibrio-like organisms* - BLO) паразитирующих в клетках *Candida albicans* [3]. BLO были исследованы как причина участков лизиса на питательных средах в культуре грибов. Результаты последующих исследований ставили под сомнение, что описанные микроорганизмы являются BLO, поэтому в данной работе мы представляем их как эндобионты (ЭБ).

Бделловибрионы и подобные микроорганизмы (BLO) - активно движущиеся, иногда изогнутые палочковидные облигатные хищники, размером около 1 мкм, в основном паразитирующие в грамотрицательных бактериях [16, 24, 25]. BLO мембранные паразиты, которые случайно сталкиваются со своей добычей [23], прилипая к ней, переходят в периплазматическое пространство, где питаются и размножаются [24].

Выявленные же нами ЭБ долгое время не вызывают гибели клеток грибов, напротив, грибы могут сохранять свою жизнеспособность в течение длительного времени (6-12 месяцев), даже в суспензии. Только в одном случае наблюдалось, что ЭБ пытаются проникнуть, пронизывая грибковую мембрану. В остальных случаях попытки ЭБ проникнуть в клетку не регистрировались. ЭБ отличаются от BLO и тем, что они присутствуют только в вакуолях. Активно-подвижные формы ЭБ наблюдаются как внутри вакуоли, так и вне клетки. В препаратах «раздавленная капля» некоторое время можно наблюдать подвижные ЭБ, затем они становятся неактивными и превращаются в неподвижные формы (сферобласты). Учитывая эти характеристики, важно уточнить, являются ли обнаруженные микроорганизмы случайными эндобионтами.

Цель исследования. Целью исследования было обнаружение ЭБ среди изолятов *C.albicans*, а также у других видов дрожжеподобных и дрожжевых грибов, выде-

Таблица 1.

Встречаемость эндобионтов у различных видов грибов

Название грибов	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.guilliermondii</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.dublinitensis</i>	<i>C.kruseii</i>	<i>C.inconspicua</i>	<i>C.glabrata</i>	Грибы рода <i>Candida</i> из окружающей среды	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	Неидентифицированные дрожжи
Количество штаммов	13	2	3	2	13	2	3	5	5	11
Обнаружение ЭБ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

ЭБ выявлены не только у всех клинических и неклинических штаммов *Candida*. Эталонные штаммы *C.albicans* РКПГУ-401/885-653, *C.glabrata* РКПГУ-1188, *C.kruseii* РКПГУ-526, *C.tropicalis* РКПГУ-531, так же неидентифицированные дрожжевые клетки, выделенные из окружающей среды, в том числе культуры *S.cerevisiae* и *S.boulardii* содержали ЭБ. Таким образом, ЭБ были обнаружены во всех

клетках из разных биотопов, и изучение их как причины появления участков лизиса в популяции грибов.

Материалы и методы. В данном исследовании использовали 51 штамм *C.albicans*, которые были выделены от больных преимущественно с респираторными, пищеварительными и мочеполовыми патологиями и других биотопов.

Наличие ЭБ исследовали также у 57 штаммов грибов, которые также были выделены при проведении микробиологических исследований из материалов от больных с разными патологиями. Из них 13 штаммов принадлежали к *C.kruseii*, 2 – к *C.dublinitensis*, 13 – к *C.tropicalis*, 3 – к *C.pseudotropicalis*, 2 – к *C.guilliermondii*, 3 – к *C.parapsilosis*, 2 – к *C.inconspicua*, 3 – к *C.glabrata* и 5 штаммов к *Stephanoascus ciferrii*, так же 11 штаммов представляли собой другие неидентифицированные дрожжевые грибы.

При проведении исследование по изучению ЭБ использованы эталонные штаммы *C.albicans* РКПГУ-401/885-653, *C.glabrata* РКПГУ-1188, *C.kruseii* РКПГУ-526, *C.tropicalis* РКПГУ-531. В том числе использованы 5 неидентифицированных штаммов, выделенных из окружающей среды, а также культуры *S.cerevisiae* и *S.boulardii*.

Выявление ЭБ проводилось микроскопическими методами в препаратах «раздавленная капля» с помощью оптического микроскопа и в ультратонких срезах под электронным микроскопом.

Результаты и обсуждение. Штаммы *C.albicans*, выделенные из разных биотопов содержат ЭБ, которые были обнаружены в вакуолях в 100% случаев у всех изолятов *C.albicans* независимо от биотопа. Другие виды грибов рода *Candida*, а также дрожжевые грибы из различных биотопов также содержали ЭБ (таблица 1).

клинических и эталонных (лабораторных) культурах, как в клетках дрожжей, так и в клетках дрожжеподобных грибов.

Повторное выявление ЭБ при многократном получении чистых культур грибов и обнаружение их в лабораторных штаммах, исключает представление о том, что ЭБ являются случайными паразитами. С целью получения популяции грибов не содержащей ЭБ, из каждой изолированной колонии грибов, выросших на среде Сабуро, готовили мазки

и микроскопировали. При обнаружении колоний, не содержащих ЭБ, их вновь переседали и культивировали на среде Сабуро. Но несмотря на многократное исследование, ЭБ обнаруживались в отдельных клетках даже после более 3-дневной культивации. Таким образом, нам не удалось получения популяции грибов, не содержащей ЭБ. Это еще раз подтверждает, что наличие ЭБ не случайно и они являются эндобионтами грибковых клеток.

В процессе исследований возникает вопрос: почему в некоторых случаях ЭБ обнаруживаются сразу в свежих культурах грибов, а в других их возможно обнаружить только в старых культурах? Предположительно, что при нахождении грибов в оптимальной среде, обнаружить в них ЭБ очень сложно. ЭБ также не обнаруживаются и в культурах, часто пересеваемых на оптимальные питательные среды. Нет сомнений, что условия окружающей среды, в которых обитают грибы, влияют на взаимодействие грибковых клеток и ЭБ. Поэтому, для внесения ясности было изучено влияние состава питательных сред, pH среды, температуры, противогрибковых и антибактериальных препаратов, эфирного масла тмина и химических веществ (methylethanolamine-C14MEtA), полученных из нефтепродуктов на внутриклеточное развитие ЭБ.

Для изучения влияния состава питательных сред на внутриклеточное развитие ЭБ использовался агар Сабуро, мясо-пептонный агар (МПА), мясо-пептонный бульон (МПБ), питательная среда на основе ферментативного гидролизата говяжьего мяса (ГМФ), сахарный агар и сахарный бульон, кровяной агар.

Полученные результаты, показывают, что ЭБ чаще выявляется в вакуолях клеток *Candida*, выращенных в неблагоприятных питательных средах (МПА, ГМФ), чем у грибов, культивируемых в оптимальных условиях (среда Сабуро). У изолятов, находящихся в неблагоприятных условиях, ЭБ можно обнаружить уже с первых дней культивации, по крайней мере в 1-2, а иногда и в большем количестве клеток грибов в поле зрения. Например, у грибов рода *Candida*, размножающихся на мясо-пептонном агаре, ЭБ обнаруживаются у 32% штаммов на 1-2 дни культивации. Однако, в таких средах как Сабуро, и сахарный агар ЭБ обнаруживаются не с первых дней, а только на 3-5 дни культивации.

Размножение ЭБ наблюдается и в старых культурах, даже если они культивируются на оптимальной среде. В старых культурах помимо увеличения количества клеток с ЭБ в вакуолях, также увеличивается количество внеклеточных ЭБ. По мере старения культур и истощения питательных веществ количество внеклеточных ЭБ увеличивается. Известно, что «голодание» является стрессовым

фактором для микроорганизмов, недостаток или истощение питательных веществ в среде, оказывая стресс на клетку хозяина и ускоряет выявление ЭБ.

Выявление ЭБ в культурах, растущих в жидких средах наблюдается в два раза чаще, чем в культурах, растущих на плотных питательных средах. В суспензиях *Candida* в изотоническом растворе и дистиллированной воде, где отсутствуют питательные вещества ЭБ обнаруживаются с высокой интенсивностью и внутри многих клеток, а также вне клеток в большом количестве.

pH среды не влияет на выявление ЭБ, они обнаруживаются в кислой (pH=2), нейтральной (pH=6-7) и щелочной (pH=9) средах, при pH=2 и pH=9 обнаруживаются исключительно внутриклеточные формы ЭБ.

Интенсивность выявления ЭБ в культурах *Candida* при различных температурах

(-18°C, 4°C, 37°C и 42°C) имеет разные показания. При 28°C ЭБ обнаруживаются чаще и больше, чем при -18°C, 4°C, 37°C и 42°C.

Слабые дозы антифунгальных препаратов - амфотерицина В (6250, 3125 и 1562,5 мкг в 1 мл питательной среды) не убивают грибы, но ускоряют появление ЭБ. Подвижные и неподвижные формы ЭБ обнаруживаются как в вакуолях клеток, так и вне клетки.

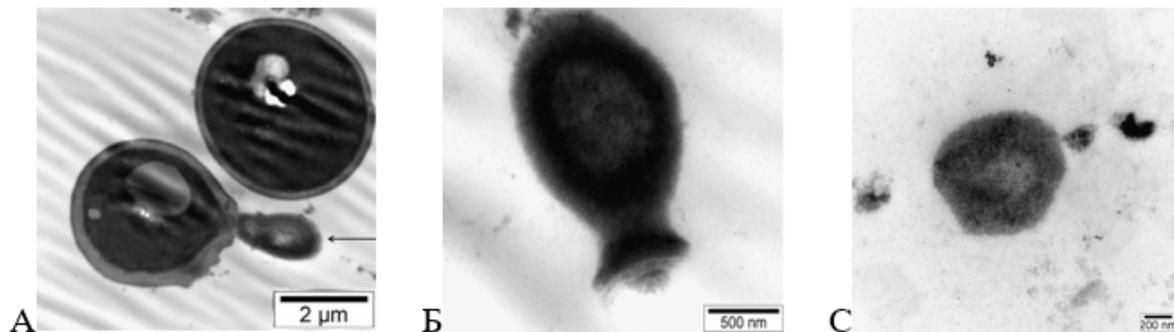
Среды, содержащие различные концентрации антибактериальных препаратов (фуразолидон - 50 мг/мл, гентамицин - 40 мг/мл, ампициллин - 500 мг/мл) не предотвращали появление ЭБ, хотя их можно было наблюдать только внутри клеточных вакуолей. Возможно, что ЭБ чувствительны к антибактериальным препаратам.

Под воздействием 1% и 3% спиртово-водных растворов эфирного масла тмина на грибы в течение 15 минут, также в них ускоряются значительные изменения и появление ЭБ (1% спиртово-водный раствор тминного масла в течение 60 мин оказывает цитотоксическое действие на клетки грибов) [2].

Схожие результаты были получены при исследовании воздействия низких концентраций химических веществ (methylethanolamine-C14MEtA), полученных из нефтепродуктов на грибы *Candida* [1]

Получить чистую культуру ЭБ несмотря на использование всех питательных сред (агар Сабуро, МПА, МПБ, ГМФ-среда, сахарный агар и сахарный бульон, кровяной агар), на которых они были обнаружены, а также на среде, содержащей экстракт дрожжей, при разных температурных режимах (28°C, 37°C) и pH=7 среды не оказалось возможным. По этой причине вопросы его идентификации пока остаются открытыми. Несмотря на предпринятые попытки идентификации ЭБ, полученные результаты (результаты не

Рис.1. Эндобионт под электронным микроскопом: А-эндобионт, покидающий дрожжевую клетку; Б-эндобионт; С-сферобластная форма эндобионта.



представлены) противоречивы. Так, морфология бактерий, выявленных при генетическом анализе, не соответствует электронно-микроскопическим изображениям обнаруженных нами ЭБ (рис.1). В настоящее время ведется работа в этом направлении.

Таким образом, частота выявления ЭБ зависит от источника, откуда изолированы *Candida* и срока культивации грибов в питательной среде. Пищевые потребности ЭБ удовлетворяются за счет эукариотической клетки, а любые факторы, замедляющие рост клеток грибов, ускоряют размножение ЭБ. Полученные результаты объясняют, почему у грибов рода *Candida*, выделенных от одних больных ЭБ видны с первых дней, иногда даже в большом количестве, а у других практически не видны – это может быть связано с индивидуальными особенностями организма (например, приём antimicrobных препаратов, внутренняя среда и т.д.).

Существование ЭБ не приводит к уничтожению клеток грибов. Эта особенность принципиально отличает их от ВЛО и фагов. Так, некоторые штаммы грибов способны сохранять жизнеспособность от 6 до 12 месяцев даже в 0,85%-ном физиологическом растворе и дистиллированной воде. Таким образом, при инокуляции грибов *Candida*, сохранившихся в физиологическом растворе и дистиллированной воде в течение 6, 8 и 12 месяцев, они образуют колонии на среде Сабуро, но наблюдается достоверное снижение количества образуемых ими колоний и увеличение числа внеклеточных форм ЭБ. Эти результаты доказывают, что ЭБ разрушает дрожжевые клетки не сразу, напротив вызывает иммортализацию грибов в течение долгого времени. Также было установлено, что длительное (6-11 месяцев) хранение грибов в неблагоприятных условиях вызывает изменение морфологических, культуральных и биохимических свойств у большинства клеток.

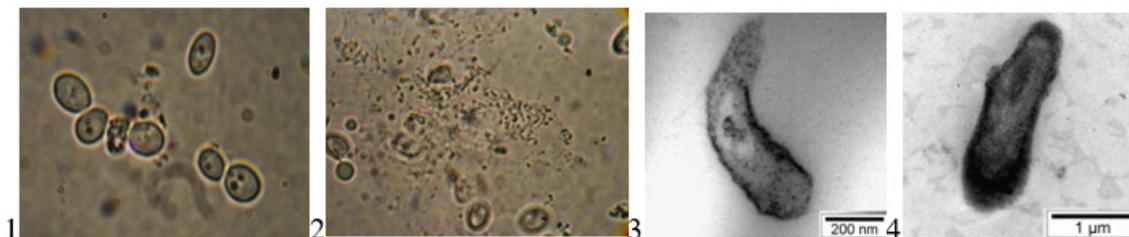
Клетки *Candida*, длительное время находящиеся в неблагоприятных условиях, особенно в физиологическом растворе, способны переходить в некультивируемые формы.

В мазках, приготовленных из засеянных штрихами колоний, даже при условии отсутствия видимого роста (в результате инкубации более 2-х дней) наблюдали достаточное количество разрушенных, а также живых клеток с вакуолями, содержащими подвижные ЭБ, и вместе с тем еще и внеклеточные ЭБ и их многочисленные сферобластные формы.

В предыдущих исследованиях ЭБ были представлены как причина лизиса грибов *Candida* [3]. Результаты же последующих исследований позволяют предположить, что они не являются причиной лизиса, так как, ЭБ обнаруживаются во всех исследованных культурах *Candida*. Можно предположить, что при посеве *Candida* газонем на поверхность питательной среды, появляющиеся участки лизиса могут быть вызваны микроорганизмом, невидимым под оптическим микроскопом. Идентификация предполагаемого агента, вызывающего лизис грибов *Candida*, представляется еще одной перспективной темой и может стать направлением для будущих работ.

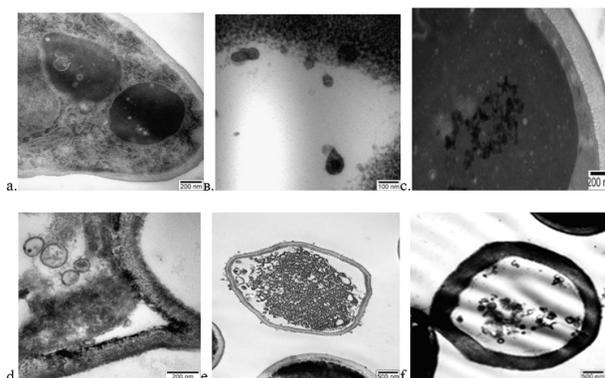
Полученные результаты позволяют предположить, что микроорганизмы, обнаруженные в вакуолях клеток грибов, являются эндобионтами. Связь между наличием эндобионтов и появлением основательных изменений в клетках грибов неоспорима. Начальными изменениями являются образование вакуолей, а также повреждение клеточной мембраны. Эти изменения можно наблюдать в мазках, в полутонких и ультратонких срезах. В зависимости от среды, и от продолжительности нахождения в ней штамма изменения в клетке-хозяине продолжаются, но, несмотря на весомые изменения, можно наблюдать, что грибковые клетки продолжают почкование. В конечном итоге клетки грибов

Рис. 2. 1, 2-разрушенные клетки грибов, 2-вместе с клеточными элементами видны микроорганизмы в различных формах (препарат «раздавленная капля», 1500); 3-4- палочковидные формы ЭБ под электронном микроскопом.



Также можно увидеть микроорганизмы различной формы в вакуолях и цитоплазме клетки *Candida* (рис.3).

Рис. 3. Клетка *S.albicans* под эдектронном микроскопом: а-в - эндобионты внутри вакуоли; с-ф - эндобионты в цитоплазме.



либо полностью разрушаются и вместе с клеточными элементами обнаруживают микроорганизмы в различных формах (вибрионы, палочки, и др.), либо они превращаются в крупные тени сферической формы, которые затем лизируются (рис.2).

Существует множество научных данных о том, что дрожжевая клетка претерпевает основательные изменения под влиянием многих факторов [4] и утверждается, что эти изменения зависят от различных факторов [4, 14, 16, 22]. Мы утверждаем, что эти изменения могут возникать и естественным образом, без какого-либо внешнего воздействия. Роль «возраста» грибковых клеток в формировании этих изменений так же неоспорима. Так, описанные изменения отдельных клеток могут наблюдаться в любых оптимальных средах и условиях культивирования. Неблагоприятные условия также ускоряют изменения в клетках грибов. Эти изменения в клетке грибов связаны с появлением ЭБ. Появление ЭБ начинается в зависимости от возраста клетки-хозяина, от состава питательной среды (оптимальный, неблагоприятный, различные препараты или вещества и т. д.), от условий культивирования (температура, pH). Иными словами, появление ЭБ в клетках грибов ускоряется в ответ на любые (стрессовые) изменения окружающей среды.

Таким образом, обнаруженные нами участки лизиса, образующиеся на поверхности питательной среды при посеве газоном грибов *Candida* [3], не имеет связи с ЭБ, так как, ЭБ обнаруживаются у всех дрожжей и дрожжеподобных грибов, а участки лизиса лишь у некоторых штаммов. ЭБ живут внутри клеток и не разрушает клетку-хозяина как BLO, а помогают ей долго выжить в неблагоприятных условиях. Полученные результаты указывают, что формирование взаимодействия между ЭБ, дрожжами и дрожжеподобными грибами, является результатом эволюции.

У некоторых микоризных грибов выявлен эндосимбиоз с бактериями [5, 6, 31]. Так, известно, что эндосимбионты микоризных грибов локализуются внутри мембраносвязанных вакуолей [5]. Электронная микроскопия спор плесневых грибов - *Glomus calidonium*, *Acaulospora laevis* и *Gigaspora margarita* выявила структуры, называемые BLO (bacteria-like objects) [7,31,34]. Морфологические и молекулярные исследования неизвестных структур, обнаруженных в спорах *Gigaspora margarita*, подтвердили, что они действительно являются бактериями. Авторы констатируют, что присутствие бактерий в грибах не является спорадическим феноменом [5]. Суть таких взаимодействий бактерий с грибами не объясняется. В некоторых источниках указывается, что бактерии используют вакуоли грибов в качестве источника пищи [6]. Известно, что некоторые бактерии паразитируют и в вакуолях клеток простейших [8, 28, 32,33]. Сообщается даже, что 70% лабораторных культур клеток животных инфицированы молликутами [42].

Сообщений же об эндосимбионтах у дрожжей и дрожжеподобных грибов почти нет. Наиболее интересные сведения в этом направлении были предоставлены А.Н.Салманян и соавторами. Они сообщали о наличии подвижных микроорганизмов в вакуолях дрожжеподобных грибов рода *Candida* и с помощью генетических методов (ПЦР) указали, что подвижными микроорганизмами внутри вакуолей оказались *H.pylori*. Столь интересный симбиоз с грибами *Candida* по-видимому является результатом пенетрации чувствительных к факторам окружающей среды *H.pylori* в клетку гриба с целью сохранения вида. Авторы считают, что вакуоли внутри *Candida* являются резервуаром для *H.pylori*, а симбиоз между грибом и бактерией – причиной персистенции в организме (готовой полости) и распространения их среди населения [39, 40, 41, 44].

Полученные нами результаты могут быть подтверждением симбиогенетической теории, так как в вакуоле эукариотической клетки, подвергшейся воздействию неблагоприятной среды, а также в «стареющей или умирающей» эукариотической клетке начинают появляться сферические ЭБ, которые хаотически двигаются. Покидая клетку ЭБ оказываются вне клетки и число их вне клетки увеличивается. Перемещаясь за пределы клетки, затем (скорее всего из-за отсутствия благоприятной среды) ЭБ превращаются в сферические спороподобные формы. Еще в 1992 г. Y.Ohsumi с коллегами показали образование сферических тел с броуновским движением в вакуоли клетки через час после инкубации мутантных клеток *S.cerevisiae* (не содержащие А-, В-протеиназы и Y-карбоксипептидазы) перенесенных с питательной среды на синтетические для определения физиологической роли и механизма протеолиза вакуолей у дрожжей. Они утверждают, что *S.cerevisiae* изолируют свои цитоплазматические компоненты в вакуоли в виде «аутофагических телец» при дефиците питательных веществ [45]. Многочисленные микротела развивались на логарифмической фазе роста в клетках *Candida tropicalis*, когда культуры выращивали в среде, содержащей нормальные алканы. Фракции микротел содержали заметное количество ДНК [36]. Согласно данным исследований некоторые ученые утверждают, что эукариотическая клетка образовалась в результате симбиоза архей с грамотрицательными бактериями, относящимися к протеобактериям [19, 20, 27, 47, 48].

Группой испанских исследователей так же была выдвинута синтрофическая гипотеза, где утверждается, что симбиоз между некоторыми сульфатредуцирующими миксобактериями (дельта-протеобактериями) и термофильными или мезофильными метаногенными археями стабилизируется и приводит к образованию первичной эукариотической клетки. Симбионт-архея, образующая клеточное ядро, потеряла свою мембрану, и было показано, что происходит массовый горизонтальный перенос генов-партнеров зубактерий в геном архей [29, 30]. Так же согласно симбиогенетической теории, выдвинутой L.Margulis еще в 1967 г., эукариоты образовались в результате последовательного слияния двух и более живых существ [35, 38].

Образование бактерий в вакуоли клетки грибов приводит к тому, что эукариотическая клетка приобретает или теряет определенные свойства. Эта идея нашла отражение в работах других исследователей [43]. ЭБ, каким то образом, поддерживают жизнеспособность клетки-хозяина в течение определенного периода времени, но в конечном итоге это приводит к разрушению грибковой клетки. Среди остатков разрозненных отдельных клеток грибов ЭБ определяется в различных формах (рис.3, с-f).

Сосуществование бактерий и дрожжей в бесчисленном множестве микробных сообществ свидетельствует об их тесной связи, которая может быть результатом внутриклеточного нахождения бактерий внутри дрожжей. Результаты исследования с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и микроскопии дрожжей обработанных амфотерицином В, также утверждают, что бактерии (*S.hominis* и *S.haemolyticus*, *H.pylori*) существуют внутри клетки дрожжей и могут иметь внутриклеточное происхождение, высвобождаясь при определенных условиях [46]. Bruno с коллегами обнаружили, что *S.epidermidis* обнаруживаются в чистых культурах *C.albicans*, изолированных из отдельных колоний [10].

Известно, что геном *S.cerevisiae* и *C.albicans* содержит горизонтально передающиеся бактериальные гены [21]. Генетическое исследование так же указывает на сосуще-

ствование бактерий и дрожжей. Результаты генетического анализа выявили наличие генов архей и бактерий в эукариотических клетках, а также в геномах дрожжей и дрожжеподобных клеток (*Candida v- Saccharomyces*) [10]. Геном *S.albicans* содержит около 6107 генов, кодирующих белки [11,17,49]. Почти все гены дрожжей необходимы для роста дикого типа, но для существования в лабораторных условиях более 80% генома оказываются необязательными для их жизнедеятельности (~1000 генов являются существенными для гриба) [17, 49]. Установлено, что гены археобактерий играют более важную роль в жизнедеятельности дрожжей [26]. Изучены условия, которые делают эти гены необходимыми для оптимального роста и обеспечивают толерантность к тестируемым условиям [13,18, 37].

Таким образом, взаимодействие между грибковой клеткой и эндобионтом, обнаруженное нами, является доказательством теории эндосимбиоза. Для подтверждения этой теории, прежде всего, следует провести более глубокий генетический анализ.

Список литературы

- Asadov Z.H., Nasibova Sh.M.,Rahimov R.A., Gasimov E.K.,Muradova S.A.,Rzayev F.H.,Asadova N.Z., Zubkov F.I. Effect of head group on the properties of cationic surfactants containing hydroxyethyl-and hydroxyethyl fragments// J.Molecular Liquids 274 (2019) 125-132. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.10.100>.
- Джалилова С.Г., Караев З.О., Мурадова С.А.,Гурбанова С.Ф.,Гаджиева С.В. Электронно микроскопическое изучение влияния эфирных масел полученных из *Cuminum L.* на грибы *Candida*. // «Молодые ученые-медицине». Материалы X научной конференции молодых ученых и специалистов с международным участием. Владикавказ, 2017, с.71-75.
- Мурадова С.А., Караев З.О., Курбанов А.И.,Гурбанова С.Ф. Бделловибриноподобные бактерии, паразитирующие в клетках грибов рода *Candida*. // Материалы 3-го Международного Микологического Форума. Москва, 14-15 апрель 2015,стр.77-79.
- Ожован С.М., Кнорре Д.А., Северин Ф.Ф., Бакеева Л.Е. // Влияние амиодарона на ультраструктуру дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / Ж.Цитология, т.51,, №11, 2009,с.911-916.
- Bianciotto V., Bandi C., Minerdi D., Sironi M., Tichy H. V., Bonfante P. An obligately endosymbiotic mycorrhizal fungus itself harbors obligately intracellular bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* (1996) 62:3005–3010.
- Bianciotto V, Genre A, Jargeat P, Becard G,Bonfante P.// Vertical transmission of endobacteria in the arbuskular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* through generation of vegetative spores. *Appl.Environ Micriobiol.* 2004; 70: 3600-3608. [Pub.Med]
- Bonfante P., Balestrini R., Mendgen K. Storage and secretion processes in the spore of *Gigaspora margarita* Becker & Hall as revealed by high-pressure freezing and freeze substitution. *New. Phytol.* (1994) 128:93–101.
- Bozue JA, Johnson W. Interaction of *Legionella pneumophila* with *Acanthamoeba castellanii*: uptake by coiling phagocytosis and inhibition of phagosome-lysosome fusion. *Infect Immun.* 1996;64:668-673.
- Bruno D., Bartelli T., Rodrigues C., Briones M. Experimental evolution and genome data analysis of *Candida albicans* reveals cryptic bacteria in single yeast colonies. 2017, , View ORCID Profile Marcelo R. S. Briones doi: <https://doi.org/10.1101/168500>.
- Bruno D.C.F. , Bartelli T. Fernanda , Camila Ronqui Rodrigues, Marcelo R S Briones Prolonged growth of *Candida albicans* reveals co-isolated bacteria from single yeast colonies // *Infect.Genet.Evol.* 2018 Nov;65:117-126, doi: 10.1016/j.meegid.2018.07.021. Epub 2018 Jul 19.
- Butler G, Rasmussen MD, Lin MF, et al. Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes. *Nature.* 2009;459(7247):657–662.
- Cotton GA, McInerney GO. Eukaryotic genes of archaeobacterial origin are more important than the more numerous eubacterial genes, irrespective of function.// *PNAS.* October 5, 2010. V.107, p.17252-17255.
- Deutscher D, Meilijson I, Kupiec M, Ruppin E. Multiple knockout analysis of genetic robustness in the yeast metabolic network//*Nat. Genet.* 2006; 38:993-998.
- Dmitriev V.V., Crowley D.E., Zvonarev A.N., Rusakova T.G., Negri M.C., Kolesnikova S.A. Modifications of the cell wall of yeasts grown on hexadecane and under starvation conditions / *J.Yeast.* Volume 33, Issue 2. February 2016 Pages 55–62.;
- Dwidar M, Monnappa AK, Mitchll RJ (2012) The dual probiotic and antibiotic nature of *Bdellovibrio bacteriovorus*. *BMB Rep* 45: 71–78. doi: 10.5483/BMBRep.2012.45.2.71.
- Ellepola A. N. B, Rachel C., Khan Z. Uddi, Samaranyake L. P. Microbiology and immunology Caspofungin-induced in-vitro post-antifungal effect and its impact on adhesion related traits of oral *Candida dubliniensis* and *Candida albicans* isolates. Volume 60, Issue 3, March 2016, Pages 160–167;
- Giaever G., Chu A M, Ni L., Connelly C., Riles L., Véronneau S., Dow S. Functional profiling of the *Saccharomyces cerevisiae* genome// 2002 Jul 25;418(6896):387-391. doi: 10.1038/nature00935.
- Gu Z, L.M Steinmetz, X.Gu, C.Scharfe, R. W. Davis, W.-H. Li. Role of duplicate genes in genetic robustness against null mutations *Nature.* 2003;421: (6918), 63-66. doi: 10.1038/nature01198.
- Gupta R.S., Aitken K., Falah M., Singh B. Cloning of *Giardia lamblia* heat shock protein HSP70 homologs: Implications regarding origin of eukaryotic cells and of endoplasmic reticulum // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1994. V. 91. P. 2895–2899;
- Gupta, 2005. Gupta R.S. Molecular sequences and the early history of life // *Microbial Phylogeny and Evolution* / Ed. J. Sapp. Oxford Univ. Press, 2005. P. 160–183;
- Hall C, Dietrich FS: The Reacquisition of Biotin Prototrophy in *Saccharomyces cerevisiae* Involved Horizontal Gene Transfer, Gene Duplication and Gene Clustering. *Genetics.* 2007, 177: 2293-2307. 10.1534/genetics.107.074963.
- Hultenby K., E.Chryssanthou, L.Klingspor, K.Rensfeldt, L.Strömbeck,J.Faergemann The effect of K101 Nail Solution on *Trichophyton rubrum* and *Candida albicans* growth and ultrastructure *Mycoses*, Volume 57, Issue 10, October 2014, Pages 630–638;
- Jashnsaz, H., Al Juboori, M., Weistuch, C., Miller, N., Nguyen, T., Meyerhoff, V., et al. (2017). Hydrodynamic hunters. *Biophys. J.* 112, 1282–1289. doi: 10.1016/j.bpj.2017.02.011.
- Jurkevitch E., S.Jacquet Predation among microorganisms: A huge potential of interspecies dependencies November 2017 *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (Advances in Hygiene and Experimental Medicine)* 71. DOI:10.5604/01.3001.0010.5608.
- Iebba V, Totino V, Santangelo F, Gagliardi A et al. *Bdellovibrio bacteriovirus* directly attacks *Pseudomonas*

- aeruginosa and Staphylococcus aureus cystic fibrosis Isolates. J.Frontiers in Microbiology, 2014,5, 280.
26. John M. Archibald Endosymbiosis and Eukaryotic Cell Evolution Current Biology volume 25, Issue 19, pR911-921, 5 October 2015
 27. Kelly S, Wickstead B, Gull K. Archaeal phylogenomics provides evidence in support of a methanogenic origin of the Archaea and a thaumarchaeal origin for the eukaryotes. Proc Biol Sci. 2011; 278:1009–1018;
 28. La Scola B., Raoult D., // Survival of Coxiella burnetii within free-living amoeba Acanthamoeba castellanii / Clinical Microbiology and Infection Volume 7, Issue 2, February 2001, Pages 75–79
 29. Lopez-Garcia P, Moreira D. Selective forces for the origin of the eukaryotic nucleus // BioEssays. 2006. V. 28. P. 525–533;
 30. Lopez-Garcia P, Moreira D. The syntrophy hypothesis for the origin of eukaryotes // Symbiosis / Ed. J. Seckbach. Kluwer Acad. Press, 2001. P. 131–146;
 31. Margulis L., Fester R., Scannerini S., Bonfante P. \Bacteria and bacteria-like objects in endomycorrhizal fungi. in Symbiosis as a source of evolutionary innovation: speciation and morphogenesis. eds Margulis L., Fester R. (MIT Press, Cambridge, Mass), (1991), p.273–287.
 32. Marolda C.L, Hauröder B, John M.A, Michel R, Valvano MA. Intracellular survival and saprophytic growth of isolates from the Burkholderia cepacia complex in free-living amoebae. Microbiology. 1999;145:(Pt 7):1509-1517.
 33. Michel R, Burghardt H, Bergmann H. //Acanthamoeba, naturally intracellularly infected with Pseudomonas aeruginosa, after their isolation from a microbiologically contaminated drinking water system in a hospital]. Zentralbl Hyg Umweltmed. 1995;196:532-544.
 34. Mosse B. Honey-coloured sessile Endogone spores. II. Changes in fine structure during spore development. Arch. Mikrobiol. (1970) 74:146–159.
 35. Nick Lane. Serial endosymbiosis or singular event at the origin of eukaryotes? // Journal of Theoretical Biology. 7 December 2017. V. 434. P. 58–67.
 36. Osumi M, Imaizumi F, Imai M, Sato H, Yamaguchi H. Isolation and characterization of microbodies from Candida tropicalis pk233 cells grown on normal alkanes, J. Gen. Appl. Microbiol., 1975, vol. 21 (pg. 375-387) DOI:10.2323/jgam.21.375
 37. Papp B, Pal C, Hurst LD. Metabolic network analysis of the causes and evolution of enzyme dispensability in yeast //Nature. 2004 ; Jun 429:661 10;429(6992):661-664. doi: 10.1038/nature02636.
 38. Sagan L. On the Origin of Mitosing Cds J. Theoret. Biol. (1967) 14, 225-274.
 39. Salmanian AH, Siavoshi F, Akbari F, Afshari A, Malekzadeh R. Yeast of the oral cavity is the reservoir of Helicobacter pylori. J.Oral Pathol.Med. 2008. Jul; 37(6):324-328;
 40. Salmanian A., Siavoshi F., Beyrami Z., Latifi-Navid S., Tavakolian A., Sadjadi A. // Foodborne yeasts serve as reservoirs of Helicobacter pylori. J.Food Safety. 2012, may, V.32, Iss.2,p.152-160;
 41. Saniee P, Siavoshi F, Nikbakht Broujeni G. et al. // Localization of H.pylori within the vacuole of Candida yeast by direct immunofluorescence technique / Archives of Iranian Medicine, Volume 16, Number 12, December 2013, p.705-710;
 42. Shahhosseiny M.H., Hosseiny Z., Khoramkhorshid H.P.,Azar S., Shokrgozar M.A. Rapid end sensitive detection of Mollicutes in cell culture by polymerase chain reaction. J.Basic.Microbiol. 2010, n.50. 171-178
 43. Sean J. Fox, Bryce T. Shelton, Michael D. Kruppa Characterization of Genetic Determinants That Modulate Candida albicans Filamentation in the Presence of Bacteria.// PLOS, August 7, 2013, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071939>
 44. Siavoshi F, Parastoo Saniee Vacuoles of Candida yeast as a specialized niche for Helicobacter pylori // World J Gastroenterol 2014 May 14; 20(18): 5263-5273;
 45. Takeshige K., M.Baba,S.Tsuboi, T.Noda, Y.Ohsumi Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. JCB Home 1992, 119 (2): 301 doi:10.1083/jcb.119.2.301
 46. Tavakolian A, Siavoshi F, Eftekhari F. Candida albicans release intracellular bacteria when treated with amphotericin B. Arch Iran Med. 2018;21(5):191–198;
 47. Williams TA, Foster PG, Cox CJ, Embley TM. An archaeal origin of eukaryotes supports only two primary domains of life. Nature. 2013; 504:231–236;
 48. Williams TA, Foster PG, Nye TM, Cox CJ, Embley TM. A congruent phylogenomic signal places eukaryotes within the Archaea. Proc R Soc B. 2012; 279:4870–4879
 49. Winzeler EA, D D Shoemaker, A Astromoff, H Liang, K Anderson, B Andreet al. Functional characterization of the S. cerevisiae genome by gene deletion and parallel analysis //Science 1999 Aug 6;285(5429):901-906. doi: 10.1126/science.285.5429.901.

К ВОПРОСУ ОБ ИЗУЧЕНИИ ФЕНОМЕНА «ПЛАТЫ» ЗА ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ У ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

Сафонова Т.И.

ФГБНУ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар

«Плата» за приспособленность (англ. fitness costs) – физиологические затраты, которые несёт организм, чтобы приобрести способность или приспособленность к конкретным условиям среды, например, устойчивость к токсическому действию пестицида (фунгицида). Феномен, достаточно широко изучаемый в связи с антибиотикорезистентностью опасных для человека бактерий и имеющий важнейшее значение в сельском хозяйстве для регуляции устойчивости к фунгицидам у фитопатогенных грибов.

Проблема «платы» за приспособленность организма обусловлена естественными эволюционными процессами,

происходящими в популяциях. С общепризнанной точки зрения приспособленность способствует не просто выживанию организма, а его репродуктивному потенциалу, возможности оставить как можно больше потомства. Известно, что отбор воздействует на популяцию одновременно в нескольких направлениях, а его результат зависит от соотношения интенсивности разных векторов отбора и контротбора. Итогом его многонаправленного действия в пределах ареала является поддержание в разнообразном состоянии и одновременно в относительной стабильности генофонда популяции. При этом часть её наследственной

изменчивости, которая определяет появление менее приспособленных к данным условиям особей, является генетическим грузом.

Воздействие фунгицидов создает экстремальные условия обитания грибов, устойчивость которых проявляется как защитная функция организма против неблагоприятного воздействия факторов окружающей среды. Эта защита снижает скорость гибели, но может «оплачиваться» снижением эффективности других функций. Наличие инварианта жизненного цикла и жесткой взаимосвязи между отдельными параметрами приводит к тому, что повышение приспособленности в связи с изменением одного признака влечет за собой «расплату», проявляющуюся в изменении другого признака и снижении приспособленности этих же организмов в несколько иных условиях. Выживание в субтоксичной среде может привести к снижению адаптивности в целом, а впоследствии, к вытеснению таких особей из популяции при изменении условий, то есть селекция устойчивого генотипа снизит приспособленность к другим экстремальным факторам окружающей среды [1]. На этом эффекте основана практическая значимость данного феномена.

В связи с относительной «молодостью» данного научного направления некоторые методологические аспекты имеют дискуссионный характер в части выбора изучаемых характеристик и их значимости в приспособленности организма.

Феномен изучают как в полевых условиях, так и в лабораторных. Полевые испытания позволяют измерить инклюзивную приспособленность во временном масштабе эксперимента, обычно в течение вегетационного периода, а часто и в течение нескольких лет [2]. Однако в данном случае невозможно контролировать условия среды, например, температуру. Кроме того, в полевых испытаниях либо полагаются на естественную инфекцию, либо формируют искусственный инфекционный фон с использованием полевых изолятов с различным генетическим бэкграундом [3].

При тестировании микромицетов на растениях в теплице или камере с контролируемой средой можно регулировать большее количество условий, а также использовать генетические линии фитопатогена: моноспорные изоляты, изогенные трансформанты или мутанты [4]. Эти эксперименты позволяют изучать такой важный признак, как патогенность, но они не всегда охватывают весь жизненный цикл, например, состояние перезимовки.

Эксперименты *in vitro*, предполагающие работу с чистой культурой микроорганизма, позволяют тщательно контролировать условия роста и часто тестировать большее количество штаммов/изолятов, повторов или различных условий. Однако измерения ограничены определенными компонентами приспособленности, такими, как рост гиф или образование конидий. В данных условиях невозможно измерить патогенность или толерантность к защитным механизмам растения-хозяина у микромицета; богатая среда для выращивания может компенсировать некоторые «штрафы» за приспособленность. Относительная приспособленность может определяться температурой, питательной средой и временем измерения, а также факторами, зависящими от осмотического или окислительного стресса [5]. Однако реакция организма в условиях *in vitro* может отличаться от таковой в естественных условиях. Исследования, подтверждающие концепцию, могут использовать экстремальные условия для максимизации «штрафных» последствий, которые, однако, могут никогда не иметь место в полевых условиях [6]. Изолированные органеллы или ферменты могут указывать на механизм «платы» за

приспособленность, но не степень его выраженности на уровне организма, кроме этого, свойства ферментов могут отличаться в лабораторных и нативных условиях [7].

Перспективным методом при изучении феномена «платы» за приспособленность являются тесты по конкурентному исключению. Анализ роста отдельных изолятов, как правило, может выявить только значительное снижение вегетативного роста или образования бесполок спор, тогда как опыты по конкурентному вытеснению дают более высокую чувствительность в выявлении различий в приспособленности. Обзор исследований на бактериях показывает, что индивидуальные различия в скорости роста должны быть > 5 % на поколение, чтобы их можно было обнаружить, тогда как конкурентные анализы могут обнаруживать различия в 1 % или даже 0,1%, в зависимости от методов обнаружения, используемых для количественной оценки частот генотипов [8]. Кроме того, для патогенов растений уровни агрессивности могут быть различными при единичных или смешанных инфекциях, поэтому конкурентные анализы более информативны в отношении влияния резистентности на патогенность, так как в полевых условиях инфекции часто монокомпонентны [3]. В конкурентных анализах часто используются пары изолятов или более сложные смеси как с равным соотношением инокулума, так и с различающимся в широком диапазоне. Важным моментом в таком подходе является возможность изучения изменения приспособленности непосредственно в системе взаимодействия «патоген – растение-хозяин».

Таким образом, эксперименты по конкурентному вытеснению позволяют получить интегральную информацию по приспособленности организма в условиях максимально приближенных к естественным: патоген взаимодействует с растением-хозяином, известен его генетический бэкграунд, абиотические условия контролируются, и индивидум находится во взаимодействии с другими особями популяции.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МФИ-20.1/98

Список литературы

1. Моисеенко Т.И. Адаптация и антропогенная эволюция животных в условиях техногенных провинций // Современные проблемы состояния и эволюции таксонов биосферы (под ред. Ермакова В.В. М.: ГЕОХИ РАН, 2017. с. 7–14.
2. Leroux P., Gredt M., Remuson F., Micoud A., Walker A. S. Fungicide resistance status in French populations of the wheat eyespot fungi *Oculimacula acuformis* and *Oculimacula yallundae* // *Pest Manag. Sci.* 2013. Vol. 69. P. 15–26. <https://doi.org/10.1002/ps.3408>
3. Zhan J., McDonald B.A. Experimental Measures of Pathogen Competition and Relative Fitness // *Annu. Rev. Phytopathol.* 2013. Vol. 51. P. 131–53. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102302>
4. Scalliet G., Bowler J., Luksch T. et al. Mutagenesis and Functional Studies with Succinate Dehydrogenase Inhibitors in the Wheat Pathogen *Mycosphaerella graminicola* // *PLOS ONE.* 2012. 7:e35429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035429>
5. Billard A., Fillingier S., Leroux P., Lachaise H., Beffa R., Debieu D. Strong resistance to the fungicide fenhexamid entails a fitness cost in *Botrytis cinerea*, as shown by comparisons of isogenic strains // *Pest Manag. Sci.* 2012. Vol. 68. P. 684–91. <https://doi.org/10.1002/ps.2312>

6. Lalève A., Fillinger S., Walker A. S. Fitness measurement reveals contrasting costs in homologous recombinant mutants of *Botrytis cinerea* resistant to succinate dehydrogenase inhibitors // *Fungal Genet. Biol.* 2014. Vol. 67. P. 24–36. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2014.03.006>
7. Meini M. R., Tomatis P. E., Weinreich D. M., Vila A. J. Quantitative Description of a Protein Fitness Landscape Based on Molecular Features // *Mol. Biol. Evol.* 2015. Vol. 32. P. 1774–87. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv059>
8. Andersson D. I., Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? // *Nat. Rev. Microbiol.* 2010. Vol. 8. P. 260–71. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2319>

АНТАГОНИЗМ ЭНДОФИТНЫХ ДРОЖЖЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР, В ОТНОШЕНИИ НЕКОТОРЫХ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

Савченко В.Е.¹, Глушакова А.М.^{1,2}, Качалкин А.В.^{1,3}

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения

²НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, 105064, Москва

³Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрябина РАН, Московская обл., Пушкино

Продолжительное хранение плодоовощной продукции всегда сопряжено с потерей определенной, иногда достаточно заметной ее части. Это связано с повреждениями и заболеваниями растений, вызванными развитием разнообразных фитопатогенных грибов. Традиционно для борьбы с ними используются различные фунгициды. Однако развитие устойчивости грибных патогенов к фунгицидам и обеспокоенность по поводу потенциально пагубного воздействия синтетических противогрибковых соединений на здоровье человека и безопасность окружающей среды приводят к необходимости находить более безопасные и экологичные альтернативы для снижения потерь урожая сельскохозяйственной плодоовощной продукции. Чтобы удовлетворить этот спрос, разрабатываются биологические стратегии, в которых для борьбы с фитопатогенами используются естественные антагонистические микроорганизмы (Dukare et al. 2018; Sipiczki, Selim, 2019). Среди микроорганизмов, которые применяют для биозащиты, дрожжевые грибы являются наиболее популярными, в том числе и из-за их неспособности производить токсичные вторичные метаболиты (Liu et al., 2013).

На сегодняшний день уже хорошо известен ряд био-препаратов, созданных на основе штаммов дрожжей-антагонистов. Например, препарат *Aspire «Ecogen»* – на основе штамма *Candida oleophila*, выделенного с поверхности то-

матов. Это первый вид дрожжевых грибов, который был взят в разработку в качестве коммерческого средства защиты растений от фитопатогенов (Freimoser et al., 2019). В США для борьбы с голубой плесенью на яблоках используются штаммы *Metschnikowia pulcherrima*, которые обладают антагонистической активностью в отношении *Penicillium expansum*. Дрожжи *M. pulcherrima* в настоящее время являются наиболее изученными в отношении биоконтроля фитопатогенов, способны подавлять ряд послеуборочных заболеваний и гнилей растений и включают самые эффективные по антагонистическому потенциалу штаммы дрожжей (Hilber-Bodmer et al., 2017). В Китае был разработан препарат на основе штамма *Rhodotorula mucilaginosa* для увеличения сроков хранения и свежести плодов. Био-препарат Shemer «Bayer» на основе штамма *Metschnikowia fructicola* доступен в Израиле (Liu et al., 2013).

В нашей работе мы впервые предприняли попытку изучить антагонистические свойства эндофитных штаммов дрожжей, выделенных из различной плодоовощной продукции по отношению к фитопатогенным грибам для оценки потенциала их возможного использования в качестве агентов биологического контроля.

Объектами исследования стали 103 штамма эндофитных дрожжей, относящихся к 17 видам и 9 родам (Таблица 1).

Таблица 1. Использованные в работе штаммы эндофитных дрожжей.

Вид	Число штаммов	Страны происхождения
<i>Aureobasidium pullulans</i>	8	Израиль, Перу, Россия, Сербия, Турция, Узбекистан
<i>Candida parapsilosis</i>	4	Вьетнам, Россия
<i>Candida zeylanoides</i>	9	Азербайджан, Аргентина, Египет, Россия, Турция, Чили
<i>Debaryomyces fabryi</i>	8	Грузия, Египет, Испания, Россия, Турция, Чили
<i>Debaryomyces hansenii</i>	8	Грузия, Иран, Испания, Россия, Турция
<i>Filobasidium magnum</i>	6	Израиль, Молдова, Россия, Турция
<i>Filobasidium wieringae</i>	6	Молдова, Россия, Турция
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	7	Азербайджан, Иран, Россия
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	9	Вьетнам, Израиль, Россия, Турция
<i>Meyerozyma caribbica</i>	7	Бразилия, Вьетнам, Доминиканская Республика, Иран
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	5	Вьетнам, Египет
<i>Rhodotorula babjevae</i>	6	Аргентина, Россия, Турция
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	8	Израиль, Иран, Россия, Сербия
<i>Yarrowia deformans</i>	3	Беларусь, Египет, Россия
<i>Yarrowia divulgata</i>	3	Россия
<i>Yarrowia galli</i>	3	Аргентина, Россия, Турция
<i>Yarrowia lipolytica</i>	3	Россия

Для тестирования были использованы 10 штаммов фитопатогенных грибов полученные из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ), относящихся к 5 видам: *Alternaria alternata* (F-3047 и F-4343), *Botrytis cinerea* (F-3850 и F-4549), *Fusarium oxysporum* (F-140 и F-2313), *Rhizoctonia solani* (F-895 и F-2935) и *Sclerotonia sclerotiorum* (F-879 и F-1195). Тестирование проводили методом посева «культура против культуры» на средах сусло агар (МА) и картофельно-декстрозный агар (PDA).

Среди 17 изученных видов дрожжей наибольшую антагонистическую активность по отношению к исследованным фитопатогенам продемонстрировали штаммы видов *Aureobasidium pullulans*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Rhodotorula babjevae*, *Yarrowia deformans*, *Yarrowia lipolytica*. Для этих видов нами были зафиксировано наиболее частое проявление антагонизма исследованными штаммами в ходе проведенного исследования со всеми штаммами фитопатогенов на разных средах для культивирования (МА и PDA).

Полученные нами результаты продемонстрировали, что среди всех штаммов фитопатогенных грибов больше всего случаев чувствительности по отношению к исследованной выборке дрожжей-эндофитов проявляют *A. alternata* F-4343 и F-3047, *S. sclerotiorum* F-1195 и *F. oxysporum* F-2314.

Большинство видов комплекса «*A. alternata*» токсигены, т. е. способны синтезировать микотоксины и загрязнять ими сельскохозяйственную продукцию, делая ее опасной для человека и животных (Ганнибал, 2011). Известен ряд случаев, когда эти грибы вызывали сильные массовые заболевания различных растений, в т. ч. пшеницы, подсол-

нечника, яблони, томатов и др. Вид *S. sclerotiorum* поражает более 400 видов растений, способен заражать растения на любой стадии роста, вызывает порчу плодов в поле или при хранении (Hegedus, Rimmer, 2005). *F. oxysporum* поражает широкий филогенетический спектр растений, может вызывать фузариозы и фузариозные увядания.

Особый интерес представляют некоторые из исследованных нами штаммов дрожжей-эндофитов, которые обладают потенциалом применения для эффективного биоконтроля развития фитопатогенов: 46 из 103 исследованных нами штаммов дрожжей-эндофитов проявили антагонизм против фитопатогенных грибов, продуцируя БАВ с формированием зоны отсутствия роста микромицета (Таблица 2). Некоторые из изученных штаммов дрожжей проявляли антагонизм сразу против нескольких видов фитопатогенов. Так, штамм *Metschnikowia pulcherrima* КБП УЕ-0031, выделенный из внутренних тканей яблока, проявил активность против представителей всех 5 исследованных видов фитопатогенов. Штамм *A. pullulans* КБП УЕ-0242, выделенный из мякоти манго, проявил активность против 4-х из 5 исследованных видов грибов-фитопатогенов. Также против 4-х представителей видов фитопатогенов был активен штамм *Metschnikowia pulcherrima* КБП УЕ-0159, выделенный из семян айвы. Против 3 исследованных видов фитопатогенов активность продемонстрировали штаммы *A. pullulans* КБП УЕ-0260, выделенный из внутренних тканей абрикоса, и КБП УЕ-0269, выделенный из семени манго, а также штаммы *H. uvarum* КБП УЕ-0216, выделенный из мякоти яблока, и КБП УЕ-0310, выделенный из мякоти хурмы.

	<i>A. alternata</i>				<i>B. cinerea</i>				<i>F. oxysporum</i>				<i>R. solani</i>				<i>S. sclerotiorum</i>			
	F4343		F3047		F3850		F4549		F2313		F140		F895		F2935		F1195		F879	
	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P
<i>Yarrowia divulgata</i>																				
YE-0071		+																		
YE-0081																		+		
YE-0114		+																		
<i>Yarrowia galli</i>																				
YE-0061							+													
<i>Yarrowia lipolytica</i>																				
YE-0067		+		+					+											
YE-0080				+																
YE-0086				+																

* М и Р – среды МА и PDA, соответственно.

Полученные нами результаты демонстрируют сильное проявление штаммовых свойств фитопатогенов в виде разной устойчивости при действии одних и тех же культур дрожжей. Так же различия зафиксированы при использовании разных питательных сред. Отметим, что в результате проведенного исследования, нами были найдены штаммы, демонстрирующие антагонизм сразу против нескольких видов фитопатогенов, что представляет ценность для биотехнологии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-74-10002 и в рамках темы госзадания МГУ № 121040800174-6.

Список литературы

- Dukare A.S., Sangeeta P., Nambi V.E., Gupta R., Sharma K., Vishwakarma R.K. Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases of fruits: a review // Crit Rev Food Sci Nutr. 2018. V. 16. P. 1–16.
- Sipiczki M., Selim S.A. Antagonistic yeasts from a salt-lake region in Egypt: identification of a taxonomically distinct group of phylloplane strains related to *Sporisorium* // Antonie van Leeuwenhoek. 2019. V. 112. P. 523–541.
- Liu J., Suia Y., Wisniewski M., Droby S., Liu Y. Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit // International journal of food microbiology. 2013. V. 167. P. 153–160. 3
- Freimoser F.M., Rueda-Mejia M.P., Tilocca B., Migheli Q. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications // World J Microbiol Biotechnol. 2019. V. 35. 154.
- Hilber-Bodmer M., Schmid M., Ahrens C.H., Freimoser F.M. Competition assays and physiological experiments of soil and phyllosphere yeasts identify *Candida subhashii* as a novel antagonist of filamentous fungi // BMC Microbiol. 2017. V.17. 4.
- Ганнибал Ф.Б. Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria*. Методическое пособие. Под ред. М.М. Левицина. СПб.: ГНУ ВИЗР Россельхозакадемии, 2011. 70 с.
- Hegedus D.D., Rimmer S.R. *Sclerotinia sclerotiorum*: when «to be or not to be» a pathogen? // FEMS microbiology letters. 2005. V. 251. P. 177–184.

АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПРЕСНЫХ ВОД

Сырбу Т.Ф., Цуркан О.П., Молдован К.Е., Бурцева С.А., Бырса М.Н.
Институт Микробиологии и Биотехнологии, Кишинёв, Республика Молдова

Грибы повсеместно присутствуют в пресноводных системах и имеют большое значение в структурной и функциональной организации этих экосистем. Пресноводные грибы очень реагируют на переменные условия окружающей среды, причем реакция сильно различается в зависимости от таксономической группы. Понимание того, как сообщества пресноводных грибов специфичны для конкретных местообитаний и как на них влияет изменчивость качества воды, имеет решающее значение для выявления и прогнозирования того, как разнообразие водных грибов и их роль в местах обитания могут измениться в ответ на изменение состояния пресной воды [1, 2].

При анализе воды рек, озер и водохранилищ обнаруживаются споры оппортунистических почвенных грибов, способные длительное время сохранять жизнеспособность в воде, особенно родов *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Fusarium* и др., и являющиеся существенным компонентом планктона и бентоса при эвтрофировании водоемов [3-5].

Микромицеты родов *Penicillium* и *Trichoderma* характеризуются высокой антифунгальной активностью по отношению к широкому спектру фитопатогенов.

Материалы и методы. Объектом исследования послужили 32 штамма грибов, выделенных из водоема «Ла извор», представители родов *Penicillium* и *Trichoderma*, считающихся, по научным данным, наиболее активными ингибиторами фитопатогенов. 14 штаммов были отобраны из воды, 3 штамма - из образцов био пленки и 15 штаммов, выделенных из ила. Была определена антифунгальная активность по отношению к патогенам: *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*.

Результаты и обсуждение. В таблице представлены результаты определения антифунгальной активности штаммов грибов, выделенных из воды, био пленки и ила, отнесенных к родам *Penicillium* (P.) и *Trichoderma* (Tr.).

При сравнении антифунгальной активности представителей рода P., выделенных из воды, по отношению к *A. niger* видно, что у 3-х штаммов (A 3; A 5; A 10) метаболиты вызывали задержку роста размером 21.0-25.3 мм, тогда как только у штамма рода Tr. A 6 была замечена способность метаболитов вызывать появление зон задержки роста размером 22.3 мм.

Остальные штаммы, представители рода P., задерживали рост этой тест-культуры размером 15.0-20.0 мм или же вообще не оказывали действие (A 1; A 7; A 8; A 14; A 15), как и штамм рода Tr. (A 16).

По отношению к другой тест-культуре – фитопатогену *A. alternata*, у представителей рода P. замечено, что их метаболиты также задерживали рост этого тест-гриба зонами размером 20.7-23.3 мм, а штамм, относящийся к роду Tr. (A 6), активнее задерживал рост этого фитопатогена (зоны до 26.0 мм), тогда как у остальных штаммов рода P. и Tr. эта способность либо отсутствовала, либо была незначительной: например, штамм A 13 задерживал рост *A. alternata* зоной размером до 14.0 мм.

Для такого возбудителя болезней сельскохозяйственных растений как *B. cinerea* было выявлено только 3 штамма, активно задерживающих его рост. Причем, все они принадлежали к роду Tr. (зоны от 28.0 до 33.7 мм), тогда остальные штаммы рода P. были способны к образованию зон задержки роста от 11.3 до 19.3 мм.

Для тест-культур, вызывающих разные проявления фузариоза (*F. solani* и *F. oxysporum*), из выделенных из воды представителей рода P. следует отметить способность задерживать рост, к примеру, *F. solani* у таких штаммов как A 2, A 4, A 5, A 10 и A 15, метаболиты которых вызывали образование зон задержки роста от 21.3 до 27.3 мм, тогда как штаммы, отнесенные к роду Tr., вызывали образование зон задержки роста 21.3-28.7 мм. Штамм A 16 отличался от остальных штаммов повышенной активностью – зоны задержки роста *F. solani* достигали 37.0 мм.

Для другого штамма рода F. – *F. oxysporum* также были выявлены штаммы рода P., активно задерживающие рост этой тест-культуры (зоны от 22.0 до 28.0 мм – штаммы A 2, A 3, A 4, A 5, A 15), тогда как среди штаммов рода Tr. выявлены штаммы, вызывающие образование зон до 24.7, 26.3 и даже до 31.7 мм (штамм A 11).

Остальные штаммы рода P. или не обладали антифунгальной активностью по отношению к представителям рода *Fusarium*, или же их антифунгальная активность была невысокой (12.7-15.7 мм).

То есть следует отметить, что способность задерживать рост фитопатогенов у выделенных из воды штаммов рода Tr. оказалась выше, чем у метаболитов рода P.

По данным, представленным в таблице, видно, что из трех штаммов, выделенных из био пленки (2 штамма рода P. и 1 штамм рода Tr.) обращает внимание штамм B 5, у которого замечена способность задерживать рост *A. niger* (зоны до 23.0 мм) и представителей рода *Fusarium* (*F. solani* – зоны до 22.3 мм, а у *F. oxysporum* – до 35.0 мм), а также и способность задерживать рост *B. cinerea* более активно, чем штаммы рода P. (17.0 мм по сравнению с 14.3-14.7 мм у штаммов рода P.).

Таблица. Антифунгальная активность штаммов грибов, выделенных из озера «Ла извор» Таблица. Антифунгальная активность штаммов грибов, выделенных из озера «Ла извор»

Род	№ штамма	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
Выделены из воды						
<i>Penicillium</i>	A 1	0	21.7±3.27	14.3±2.36	15.7±0.65	0
	A 2	15.0±1.1	20.7±1.31	19.0±1.13	22.0±2.26	22.0±2.26
	A 3	25.3±0.65	23.3±3.27	0	15.0±1.13	26.0±1.1
	A 4	20.0±2.26	22.3±0.65	19.3±1.31	22.7±1.3	23.3±1.31
	A 5	21.0±1.13	21.3±1.31	18.7±1.73	24.0±2.26	28.0±2.26
	A 7	0	0	0	0	0
	A 8	0	0	17.7±1.31	12.7±1.31	13.3±1.31
	A 10	21.0±1.13	23.0±1.13	11.3±1.31	27.3±1.31	30.3±0.65
	A 14	0	0	15.7±0.65	0	0
	A 15	0	21.7±3.27	16.0±1.13	21.3±1.31	24.7±2.85
<i>Trichoderma</i>	A 6	22.3±0.65	26.0±1.13	16.0±1.13	25.3±1.31	24.7±1.3
	A 11	19.3±1.31	0	31.3±1.31	26.7±3.2	31.7±3.27
	A 13	16.0±1.13	14.0±2.26	28.0±2.26	28.7±1.31	19.0±1.13
	A 16	0	21.7±3.27	33.7±3.64	37.0±1.13	26.3±1.73
Выделены из биоплёнки						
<i>P.</i>	B 1	0	0	14.3±0.65	13.7±1.73	12.0±2.26
	B 3	0	0	14.7±0.65	15.7±0.65	16.3±1.73
<i>T.</i>	B 5	23.0±2.99	0	17.0±1.13	22.3±2.85	35.0±1.13
Выделены из ила						
<i>Penicillium</i>	N 1	0	18.0±2.26	0	15.0±1.13	14.0±1.13
	N 2	0	18.3±2.36	14.7±0.65	12.7±0.65	10.7±1.31
	N 3	0	39.0±1.13	14.3±1.73	15.0±1.13	18.0±2.26
	N 4	0	39.0±1.13	13.3±1.31	15.3±0.65	11.3±1.31
	N 5	0	17.3±1.31	16.7±1.31	14.7±0.65	0
	N 6	0	17.7±2.85	0	16.3±1.73	0
	N 7	28.3±1.73	17.3±1.31	13.3±1.31	18.7±1.31	26.3±1.31
	N 8	0	16.0±1.13	16.3±0.65	15.7±0.65	0
	N 28	0	27.7±2.85	14.3±1.73	22.0±2.26	27.7±2.85
	N 29	23.0±2.99	22.0±2.26	16.3±0.65	25.3±0.65	18.0±2.26
<i>Trichoderma</i>	N 9	24.7±0.65	28.7±1.31	40.0±1.13	40.0±2.26	29.0±4.08
	N 10	16.0±1.13	40.0±2.26	40.7±1.73	40.0±1.96	40.0±1.13
	N 12	18.0±2.26	40.0±2.26	40.7±1.73	40.0±1.96	40.0±1.13
	N 13	18.0±2.26	31.7±3.27	40.0±2.26	40.0±2.26	40.0±1.96
	N 14	18.7±1.31	40.0±2.26	41.3±1.31	40.3±1.73	40.3±1.73

Для штаммов, выделенных из ила, характерно большее разнообразие в проявлении антифунгальной активности по отношению к выбранным тест-фитопатогенам.

Так, например, у 9 штаммов рода *P.* не замечена способность задерживать рост *A. niger*, за исключением 2-х штаммов – штамм N 7 (зоны размером 28.3 мм), N 29 (зоны размером 23.0 мм). Все 5 штаммов рода *Tr.* обладали этой способностью (зоны от 16.0 до 24.7 мм).

У *A. alternata* активными антагонистами оказались 5 штаммов рода *Tr.* (размер зон от 28.7 до 40.0 мм). Среди штаммов рода *P.* также были найдены активные антагонисты *A. alternata*: под действием их метаболитов у этого тест-организма фиксировали зоны задержки роста от 27.7 до 39.0 мм (штамм N 3, N 4, N 28). Другие штаммы рода *P.* отличались меньшей активностью (зоны 16.0-22.0 мм). Это штаммы (N 1, N 2, N 5, N 6, N 8), а под действием штамма N 28 и N 29 зоны доходили до 22.0-27.7 мм.

То есть следует также отметить большую активность у штамма – представителя рода *Tr.*, хотя у штамма рода *P.* также замечена эта особенность по отношению к *A. alternata*.

Способность выделенных из ила штаммов рода *P.* и *Tr.* задерживать рост широко распространенного в Молдове такого фитопатогена как *B. cinerea* была обнаружена у 14 из 16 штаммов. Обращает внимание высокая активность у 5

штаммов, принадлежащих к роду *Tr.* – диаметр зон задержки роста этой тест-культуры варьировал от 40.0 до 41.3 мм, тогда как среди штаммов рода *P.* у 3-х штаммов она вообще не была обнаружена, а у 8-ми штаммов она была незначительной (диаметр зон задержки роста – от 13.3 до 16.7 мм).

Такая же особенность замечена и по отношению к представителям рода *Fusarium*: для штаммов – представителей рода *P.*, выделенных из ила, свойственна невысокая антифунгальная активность по отношению к *F. solani* (12.7-18.7 мм) и *F. oxysporum* (10.7-18.0 мм) за исключением таких штаммов, как N 28 и N 29 (зоны 22.0-25.0 у *F. solani*), штамм N 7 (26.3 мм) и штамм N 28 (27.7 мм).

Итак, анализируя полученные данные, следует отметить, что из выделенных из воды штаммов рода *P.* представляют интерес штаммы A 3 и A 10, так как у этих штаммов была отмечена антифунгальная активность по отношению к 4-5 тест-культурам, у которых размер зон задержки роста варьировал от 11.3 до 30.3 мм, в зависимости от особенностей тест-фитопатогена. Особого внимания заслуживают штаммы рода *Tr.*: все 5 штаммов проявляли заметную активность по отношению к тест-фитопатогенам. Диаметр зон задержки роста фитопатогенов варьировал от 16.0 до 37.0 мм, причем это были такие широко распространенные в Молдове возбудители болезней сельскохозяйственных

растений как *B. cinerea* (31.1 и 33.7 мм зоны под влиянием метаболитов штаммов А 11 и А 16) и представители рода *Fusarium*. Зоны задержки их роста достигали 28.7-37.0 мм под воздействием метаболитов таких штаммов, как А 10, А 11, А 13, А 16.

Из штаммов рода *P.* также заслуживают внимания такие штаммы, как А 4, метаболиты которого вызывали образование зон задержки роста у выбранных фитопатогенов размером от 19.3 до 23.3 мм, А 5 (зоны от 18.7 до 28.0 мм); А 15 (зоны от 16.0 до 24.7 мм).

Из 3-х штаммов, выделенных из биопленки, привлекает внимание штамм В 5, так как его метаболиты активнее задерживали рост фитопатогенов, чем штаммы рода *P.*: зоны задержки роста составляли 17.0-35.0 мм или 12.0-16.3 мм, соответственно.

Штаммы из рода *P.*, выделенные из ила, следует характеризовать как штаммы, отличающиеся строгой избирательностью: у них замечена способность активно воздействовать на такие фитопатогены как *A. alternata* (зоны от 27.7 до 39.0 мм), *A. niger* (28.3 мм), *F. oxysporum* (зоны от 26.3 до 27.7 мм) на фоне невысокой активности к таким фитопатогенам как *B. cinerea*, *F. solani*, *F. oxysporum* (зоны от 10.7 до 16.7 мм) и полным отсутствием способности задерживать рост такого фитопатогена, как *A. niger* (9 штаммов), тогда как, например, 7 штаммов из воды, отнесенных к роду *P.* обладали этим свойством: вызывали образование зон задержки роста *A. niger* размером от 15.0 до 25.3 мм.

Выводы. Таким образом, микромицеты родов *Penicillium* и *Trichoderma* обладают высокой антифунгальной активностью по отношению к исследуемым фитопатогенам. Самые активные штаммы были отобраны для дальнейших исследований.

Исследования финансировались в рамках проекта 20.80009.7007.09 (ANCD).

Список литературы

1. French L. Analysis of eDNA to Assess Effects of Water Quality on Freshwater Fungal Diversity in a Virginia Coastal Watershed. Undergraduate Honors Theses. William & Mary. Paper 1803. 2002.
2. Comic L., Rankovici B., Novevska V., Ostojic A. Diversity and dynamics of the fungal community in Lake Ohrid. *Aquatic Biology*. Vol. 9: 169-176, 2010 doi: 10.3354/ab00248.
3. Pearman J. K. Fungi in aquatic habitats near St. Andrews in Scotland / J. K. Pearman, J. E. Taylo, J. R. Kinghorn. – *Mycosphere*. – 2010. – № 1. – P. 11–21.
4. Voronin L.V. Terrigenous micromycetes in freshwater ecosystems (review). *Inland Water Biol* 7, 352–356 (2014).
5. Lepère C., Domaizon I., Humbert J., Jardillier L., Hugoni M., Debroas D. 2019. Diversity, spatial distribution and activity of fungi in freshwater ecosystems. *PeerJ*. 7:e6247.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОЗЕРА ЛА ИЗВОР МУН. КИШИНЭУ

Сырбу Т.Ф., Цуркан О.П., Молдован К.Е., Бурцева С.А., Бырса М.Н.
Институт Микробиологии и Биотехнологии, Кишинёв, Республика Молдова

Микроскопические грибы родов *Penicillium* и *Trichoderma* синтезируют разнообразные вторичные метаболиты с высокой биологической активностью. К настоящему времени установлено, что представители этих родов образуют около 200 соединений с антибактериальным, антигрибным, антипротозойным и цитотоксическим действием [1, 2].

Использование биологического метода в защите растений – один из элементов современных технологий фитосанитарной оптимизации агроценозов. Биопрепараты применяют для обработки посевного материала, опрыскивания растений в период вегетации, обогащения почвы полезными микроорганизмами для улучшения ее плодородия, стимулирования процесса саморегуляции агроценозов. Грибы рода *Penicillium* и *Trichoderma* широко используют как продуценты биологических средств защиты растений от болезней. Их применение для предпосевной обработки семян увеличивает всхожесть, ускоряет развитие и накопление запасных веществ, усиливает обмен, влияет на характер биохимических процессов [3].

Цель исследований: выявить наиболее активные штаммы – антагонисты по отношению к бактериальным возбудителям болезней сельскохозяйственных растений.

Материалы и методы. Объектом исследования послужили 33 штамма микромицетов рода *Penicillium* и *Trichoderma*, выделенных из воды, биоплёнки и ила озера «Ла извор», муниципия Кишинёв. Антибактериальную активность определяли методом агаровых блоков. В опытах были использованы фитопатогенные бактерии – возбудители болезней сельскохозяйственных растений, часто встречающихся в Молдове.

Результаты и обсуждение. В таблице приведены результаты определения способности микромицетов рода *Penicillium* (*P.*) и *Trichoderma* (*Tr.*), выделенных из воды системы озера «Ла извор». Видно, что по отношению к *B. subtilis* у штаммов, отнесенных к роду *P.*, достаточно неоднозначное действие. Например, у ряда штаммов рода *P.* антибактериальная активность незначительна: размер зон задержки роста колеблется от 13.0 до 19.0 мм, тогда как у таких штаммов как А 1, А 3 метаболиты вызывали образование зон задержки роста размером в диаметре 32.3-34.7 мм, а у штамма А 14 – только 23.3 мм.

Сравнивая способность штаммов рода *Tr.*, задерживать рост *B. subtilis* с таковой у штаммов рода *P.* следует отметить, что штамм А 11 не обладает такой способностью, а у штамма А 6, А 13 и А 16 она была в интервале 14.7-18.0 мм,

то есть как и у большинства штаммов рода *P.*, выделенных из воды.

Способность задерживать рост такого фитопатогена как *X. campestris* (вызывает черную гниль плодов сельскохозяйственных растений) также была неодинаковой. Так, у штаммов рода *P.* А 1, А 3, А 14 метаболиты вызывали образование зон задержки роста диаметром 22.3-27.3 мм, тогда как у остальных штаммов рода *P.*, выделенных из воды, размеры зон находились в интервале 12.7-18.7 мм, за исключением штамма А 2, который вызывал образование зон этого теста размером 20.3 мм.

У штаммов рода *Tr.*, выделенных из воды, была замечена антибактериальная активность к этому тесту, варьирующая в интервале 17.3-20.3 мм, а у 2-х штаммов рода *Tr.* (штамм А 11 и А 16) не было проявления антибактериальной активности по отношению к *X. campestris*.

У штаммов рода *P.*, выделенных из воды, способность задерживать рост, в основном, выражалась появлением зон размером от 15.0 до 19.0 мм. Только у 3-х штаммов рода *P.* (А 2, А 3 и А 14) зоны были чуть больше – 20.7-22.3 мм. Активнее всех задерживал рост этой фитопатогенной бактерии штамм рода *P.* А 1 – зоны доходили до 31.3 мм.

Анализируя уровень антибактериальной активности у 4-х штаммов рода *Tr.*, можно отметить, что у 2-х штаммов (А 6 и А 13) метаболиты вызывали образование зон размером 15.0-19.0 мм, а два других штамма рода *Tr.* вообще не действовали на эту бактерию.

Для *A. tumefaciens* удалось выявить только 2 штамма рода *P.*, которые характеризовались антибактериальной активностью среднего уровня (24.0-25.0 мм зоны), у остальных штаммов рода *P.* метаболиты вызывали появление зон задержки роста диаметром 14.0-19.3 мм. Два штамма рода *Tr.* из воды вообще не действовали на рост этой тест-бактерии (штамм А 11 и А 16), а 2 других отличались невысокой активностью (16.3-17.0 мм зоны задержки роста этой тест-культуры).

К фитопатогенной бактерии *E. carotovora* среди штаммов рода *P.*, выделенных из воды, 3 штамма проявили заметную активность – зоны задержки роста были от 27.3 до 30.7 мм (штаммы А 1, А 3 и А 14). Остальные штаммы рода *P.* вызывали появление зон задержки роста размером 15.7-18.7 мм и только штамм А 2 характеризовался образованием зоны размером в 21.0 мм. Два штамма рода *Tr.* из воды обладали способностью задерживать рост *E. carotovora* зонами до 18.7 мм и два штамма вообще не проявляли активности к этой тест-бактерии.

Таблица. Антибактериальная активность штаммов микромикетов, выделенных из системы озер «Ла извор», диаметр зоны угнетения тестируемых фитопатогенов (мм)

Род	№ штамма	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Xanthomonas campestris</i>	<i>Corynebacterium michiganensis</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<i>Erwinia carotovora</i>
<i>Выделены из воды</i>						
<i>Penicillium</i>	A 1	32.3±2.8	22.3±2.8	31.3±1.3	24.0±1.9	30.7±1.3
	A 2	17.0±1.1	20.3±0.6	20.7±0.6	18.7±1.3	21.0±1.1
	A 3	34.7±0.6	27.3±5.5	22.0±2.2	25.0±2.9	29.0±4.0
	A 4	16.0±1.9	18.7±1.7	17.3±1.3	19.3±1.3	18.7±1.3
	A 5	16.3±0.6	17.3±1.3	17.7±0.6	18.7±1.3	16.3±1.7
	A 7	13.0±1.1	12.7±1.3	15.3±0.6	14.0±1.1	15.7±0.6
	A 8	19.0±1.1	18.3±0.6	18.7±1.3	18.7±2.3	16.7±1.3
	A 10	16.7±1.7	18.0±1.1	17.3±0.6	16.7±1.3	18.7±1.3
	A 14	23.3±3.2	23.3±3.4	22.3±0.6	23.3±1.7	27.3±2.8
	A 15	13.0±1.1	12.7±1.3	15.3±0.6	14.0±1.1	15.7±0.6
<i>Trichoderma</i>	A 6	15.3±0.6	17.3±1.3	15.0±1.1	16.3±2.3	18.7±1.3
	A 11	0	0	0	0	0
	A 13	18.0±2.2	20.3±0.6	19.0±1.1	17.0±1.1	18.7±1.3
	A 16	14.7±2.6	0	0	0	0
<i>Выделены из биоплёнки</i>						
<i>P.</i>	B 1	32.3±2.8	23.3±1.3	17.3±2.6	16.0±6.0	0
	B 3	32.3±2.8	22.7±2.6	20.3±0.6	23.3±1.3	0
<i>T.</i>	B 5	0	0	0	0	0
<i>Выделены из ила</i>						
<i>Penicillium</i>	N 1	0	0	0	0	0
	N 2	38.0±1.1	25.7±0.6	20.7±1.3	22.7±3.4	20.7±1.3
	N 3	31.3±1.3	20.0±2.2	10.7±1.3	16.3±0.6	0
	N 4	31.3±1.3	19.3±1.3	15.0±1.1	18.3±1.7	28.0±2.2
	N 5	33.0±4.0	22.3±2.8	25.0±1.1	25.3±0.6	24.3±2.3
	N 6	34.0±1.9	21.7±3.2	23.3±1.3	25.7±0.6	0
	N 7	36.3±1.3	26.0±1.1	17.3±1.3	22.0±2.2	17.3±0.6
	N 8	30.3±0.6	23.3±1.7	19.3±1.3	21.3±1.3	0
	N 11	35.7±1.3	30.7±1.3	26.0±2.2	28.0±1.9	30.0±2.2
	N 28	37.3±1.3	25.3±0.6	25.7±1.3	25.3±0.6	0
	<i>Trichoderma</i>	N 29	35.7±0.6	28.3±1.7	26.0±1.9	23.3±1.3
N 9		33.7±1.7	12.7±1.3	17.3±1.3	21.0±1.1	20.7±1.3
N 10		33.3±3.2	29.3±1.3	25.7±1.3	24.0±2.2	30.7±1.3
N 12		36.0±1.9	25.7±3.6	20.7±1.3	24.3±1.3	28.7±2.6
N 13		34.0±1.9	22.3±2.8	20.7±1.3	24.7±1.7	23.0±1.9
N 14		30.7±1.3	26.7±1.7	23.7±1.7	26.7±1.7	28.7±1.7

Для выделенных из биопленки штаммов рода *P.* (штаммы B 1 и B 3) свойственна высокая антибактериальная активность по отношению к *B. subtilis* – зоны до 32.3 мм.

Менее активно эти штаммы задерживали рост других тест-бактерий – *X. campestris*, *C. michiganensis* и *A. tumefaciens*. У них отмечали появление зон диаметром 16.0-23.3 мм.

Эти штаммы не действовали на *E. carotovora*, как и штамм рода *Tr.* B 5, который, кроме *E. carotovora*, не был способен влиять на рост других тест-бактерий.

16 штаммов микроскопических грибов, выделенных из придонных отложений, из которых 11 штаммов отнесены к роду *P.* и 5 штаммов – рода *Tr.* следующим образом проявили свою способность задерживать рост фитопатогенных бактерий: из 11 штаммов рода *P.* 10 штаммов показали достаточно заметную способность задерживать рост тест-бактерии *B. subtilis*: размер зон варьировал от 30.3 до 38.0 мм, тогда как у 5 штаммов рода *Tr.* метаболиты вызывали образование зон от 30.7 до 36.0 мм, то есть для *B. subtilis* наиболее активными антагонистами можно считать 5 штаммов рода *P.*, которые вызывали образование зон задержки роста этой тест-бактерии размером 35.7-38.0 мм и 1 штамм рода *Tr.* N 12 (зоны отсутствия роста до 36.0 мм).

Другой штамм из выбранных в эксперименте фитопатогенных бактерий – *X. campestris* изучаемые штаммы грибов также задерживали его рост, но несколько в меньшей степени, хотя следует отметить 5 штаммов из рода *P.*, метаболиты которых обладали способностью задерживать рост этого фитопатогена зонами размером 25.3 мм (штамм N 28); 25.7 мм (штамм N 2); 26.0 мм (штамм N 7); 28.3 мм (штамм N 29) и 30.7 мм (штамм N 11) и 3 штамма из рода *Tr.* (штамм N 12 и N 14) – зоны 25.7 мм и 26.7 мм, соответственно; и 29.3 мм (штамм N 10).

У остальных штаммов под воздействием их метаболитов были отмечены зоны отсутствия роста *X. campestris* диаметром 12.7-23.3 мм.

Рост *C. michiganensis* из 11 штаммов *P.* активнее всего задерживали 4 штамма: в этих вариантах опытов отмечали появление зон отсутствия роста размером 25.0-26.0 мм, а у других штаммов *P.* способность задерживать рост этого тест-фитопатогена была слабее (зоны от 10.7 до 23.3 мм). Из 5 штаммов рода *Tr.* следует отметить 1 штамм (N 10), метаболиты которого вызывали образование зон отсутствия роста этого фитопатогена до 25.7 мм, тогда как у других 4-х штаммов – только от 17.3 до 23.7 мм.

Как показал анализ полученных результатов, для *A. tumefaciens* из 11 штаммов *P.* способность задерживать его

рост зонами 25.3-25.7 мм замечена у штамма N 5, N 6, N 28, у штамма N 11 – 28.0 мм, а у остальных штаммов варьировала от 16.3 до 23.3 мм. Штаммы, принадлежащие к роду *Tr.* (N 9 и N 10) вызывали образование зон диаметром 21.0 и 24.0 мм соответственно, а у 3-х штаммов этого же рода (N 12, N 13 и N 14) метаболиты задерживали рост этого фитопатогена зонами 24.3-26.7 мм. То есть, практически для этой фитопатогенной бактерии из выделенных из придонных отложений микроскопических грибов более активными антагонистами можно рассматривать штамм N 11 из *P.* и штамм из рода *Tr.* N 14, под действием которых происходит задержка роста фитопатогена диаметром 28.0 и 26.7 мм, соответственно.

Для *E. carotovora* из 16 штаммов микроскопических грибов активными антагонистами можно рассматривать 2 штамма *P.* N 4 и N 11, 3 штамма рода *Tr.* N 10, N 12, N 14, т.к. их метаболиты вызывали появление зон задержки роста этого фитопатогена размером в диаметре от 28.0 до 30.7 мм, при том, что 6 штаммов *P.* вообще не способны были тормозить рост этой фитопатогенной бактерии, а другие штаммы, также отнесенные к роду *P.*, способствовали образованию зон размером 17.3-24.3 мм.

Выводы. Итак, следует отметить активных антагонистов из рода *P.* по отношению к тест-культуре *B. subtilis* – штаммы A 1, A3, B1, B3, N 2, N 7, N 11, N 12, N 13, N 28, N 29 (зоны задержки роста – 32.3-38.0 мм), а из представителей рода *Tr.* – N 9, N 10, N 12, N 13 (зоны размером 33.3-36.0 мм);

– для *X. campestris* – это штаммы рода *P.* – A 3, N 2, N 7, N 11, N 29 (зоны задержки роста диаметром 25.7-28.3 мм), а из штаммов рода *Tr.* – штаммы N 10, N 12, N 14 (зоны размером 25.7- 26.7 мм);

– для *C. michiganensis* – это штаммы *P.* – A 1, N 11, N 28, N 29 (зоны от 25.7 до 31.3 мм) а из штаммов, принадлежащих к роду *Tr.* – штамм N 10 (зоны до 25.7 мм);

– для *A. tumefaciens* – это штаммы *P.* – N 6, N 11 (зоны 25.7 и 28.0 мм), а из рода *Tr.* – N 14 (зоны до 26.7 мм);

– для *E. carotovora* – это *P.* – A 1, A 3, A 12, N 4, N 11 (зоны от 27.5 до 30.7 мм), а из рода *Tr.* – N 10, N 12 и N 14 (зоны 28.7-30.7 мм).

Исследования финансировались в рамках проекта 20.80009.7007.09 (ANCD).

Список литературы

1. Орлова Т.И., и др. Вторичные метаболиты морских микроорганизмов. II. Морские грибы и места их обитания. Антибиотики и Химиотерапия, 2016, 61(9-10): 52-63.
2. Куварица А.Е., и др. Антимикробная активность штаммов грибов рода *Trichoderma* из средней Сибири. Прикладная биохимия и микробиология. 2015. 51(3): 1-9.
3. Садыкова В.С. Экология грибов рода *Trichoderma* Pers: Fr. бассейна реки Енисей, их биологические свойства и практическое использование. Дисс. д.б.н. 03.02.12 - Микология, 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии). 2012. Москва, 46 с.

ОБРАЗОВАНИЕ ФИТОГОРМОНА ЗЕАТИНА ЭНДОФИТНЫМИ ДРОЖЖАМИ ИЗ ПЛОДОВ *MALUS DOMESTICA*

Стрелецкий Р.А.¹, Лепешко А.А.¹, Глушакова А.М.^{1,2}, Качалкин А.В.^{1,3}

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения, 119991

²НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, 105064, Москва

³Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрябина РАН, Московская обл., г. Пушкино

Эндофитные микроорганизмы являются одним из наиболее перспективных направлений в изучении микробно-растительных ассоциаций в фундаментально-научном и биотехнологически-прикладном аспектах. Одним из актуальных практических вопросов в исследовании эндофитов является поиск микроорганизмов, способствующих росту и защите растений (*plant growth promoting microorganisms, PGPMs*), прежде всего тех, которые имеют важное сельскохозяйственное значение. Например, таких микроорганизмов, которые продуцируют фитогормоны, такие как ауксины, цитокинины, гиббереллины и др. (Doty, 2013; Ling et al., 2020; Streletskii et al., 2019). Действие штаммов, продуцирующих фитогормоны, часто ответственно за микробную стимуляцию прорастания, роста и развития высших растений, а также их защиту от фитопатогенов (Ignatova et al., 2015; Tsavkelova et al., 2006). Исследования эндофитных дрожжей и их фитогормональной активности широко ведутся уже некоторое время во многих странах и показывают чрезвычайно интересные результаты. Однако, как правило, они ограничиваются ауксинами, в основном индол-3-уксусной кислотой (IAA) (Dusa et al., 2014; Jaiboon et al., 2016; Limtong et al., 2014; Streletskii et al., 2016).

Это побудило нас впервые провести исследование способности некоторых эндофитных штаммов дрожжей, которые являются обязательным компонентом подавляющего большинства дрожжевых комплексов внутренних тканей

сочных плодов, продуцировать фитогормон зеатин, один из наиболее распространенных цитокининов.

В качестве сельскохозяйственной культуры была выбрана яблоня. Она широко распространена в самых различных географических зонах, и является одной из самых значимых, популярных, привлекательных и активно употребляемых в пищу плодовых культур как в свежем, так и в переработанном виде (Gross et al., 2018; Robinson et al., 2011).

Для исследования синтеза фитогормона зеатина была подготовлена выборка из 17 культур 9 видов дрожжей, выделенных в качестве эндофитов из плодов *Malus domestica* отечественного и импортного происхождения: *Candida parapsilosis* (YE-0122), *Candida zeylanoides* (YE-0073, YE-0079, YE-0131), *Hanseniaspora uvarum* (YE-0106, YE-0302), *Metschnikowia pulcherrima* (YE-0031, YE-0139, YE-0303), *Rhodotorula babjevae* (YE-0066, YE-0721), *Rhodotorula mucilaginosa* (YE-0166), *Yarrowia divulgata* (YE-0071), *Yarrowia galli* (YE-0061, YE-0068) и *Yarrowia lipolytica* (YE-0080, YE-0086). Отдельно стоит отметить, что в работе были исследованы штаммы дрожжей не только из мякоти плодов, но и выделенные из семян яблок: YE-0079, YE-0080, YE-0086, YE-0122 и YE-0131.

Наработка культуральной жидкости проводилась в течение 5 суток на питательной среде (10 г/л глюкозы и 10 г/л азотной основы «Fluka») с добавлением прекурсора АТФ-На – 1 г/л). Выросшие дрожжи отделяли от культуральной

жидкости центрифугированием при 5000 об/мин в течение 5 мин. Биомассу использовали для расчета удельной концентрации зеатина.

Количественное определение производилось на высокоэффективном жидкостном хроматографе с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометрическим детектором (6520 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS Agilent Technologies) по методу абсолютной калибровки посредством сравнения обилия (количества) дочернего иона (m/z : зеатин = 136,06) в пробах и стандартных растворах 3–30 нг/мл фитогормона зеатина «Acros».

Полученные результаты показали продукцию зеатина у 70.6 % исследованных эндофитных штаммов. Эти данные заметно выше ранее полученных результатов для выборки дрожжевых культур из разных местообитаний, когда продукция фитогормона была обнаружена только для 55 % штаммов (Streletskii et al., 2019). Для большинства исследованных культур уровень продукции зеатина был схожим и

находился в пределах 20–70 нг/г сухой биомассы (Таблица). Различия между штаммами одного вида, за исключением *Y. galli*, также были незначительными. Обнаруженный уровень продукции зеатина заметно ниже полученных ранее нами результатов (Streletskii et al., 2019). Но, в то же время, согласуется с данными других исследователей, обнаруживших количество фитогормона 27.4 нг/г в мицелии фитопатогена *Puroopeziza brassicae* (Murphy et al., 1997) и 4.4 нг/г в экстракте *Saccharomyces cerevisiae* (Jameson, Morris, 1989).

Сопоставление продукции зеатина и ауксина у исследованной выборки дрожжей-эндофитов из яблок показало, что 47 % исследованных штаммов способны синтезировать сразу два фитогормона (Таблица). Сопоставимое значение (57 %) было получено нами ранее при исследовании дрожжевых культур из разных местообитаний (Стрелецкий, 2017).

В дальнейшем нами планируется расширить список штаммов-эндофитов для исследования продукции зеатина.

Таблица. Список исследованных культур и их уровень продукции фитогормонов (зеатин и ауксин).

Штамм	Вид	Страна	Зеатин, нг/г	Ауксин, мкг/г
YE-0122*	<i>Candida parapsilosis</i>	Россия	–	5.97±0.38
YE-0073	<i>Candida zeylanoides</i>	Россия	24.45±2.25	–
YE-0079*	<i>Candida zeylanoides</i>	Россия	29.65±0.45	–
YE-0131*	<i>Candida zeylanoides</i>	Россия	54.90±2.70	7.67±0.13
YE-0106	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	Россия	–	12.94±0.03
YE-0302	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	Россия	–	–
YE-0139	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Россия	58.10±4.10	–
YE-0031	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Россия	26.85±1.45	17.15±2.51
YE-0303	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Россия	57.40±1.90	163.87±38.82
YE-0066	<i>Rhodotorula babjevae</i>	Аргентина	61.85±2.75	8.78±0.90
YE-0721	<i>Rhodotorula babjevae</i>	Турция	28.45±1.05	45.29±3.94
YE-0166	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Россия	69.15±2.15	7.90±0.41
YE-0071	<i>Yarrowia divulgata</i>	Россия	–	–
YE-0061	<i>Yarrowia galli</i>	Аргентина	6.75±0.55	–
YE-0068	<i>Yarrowia galli</i>	Турция	–	100.60±4.74
YE-0080*	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Россия	23.65±0.55	12.35±1.08
YE-0086*	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Россия	73.80±1.50	44.62±7.70

* – культуры из семян

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-74-10002 и в рамках темы госзадания МГУ № 121040800174-6.

Список литературы

- Doty S.L. Endophytic yeasts: biology and applications. In: Symbiotic Endophytes. Springer, Berlin. 2013. P. 335–343.
- Ling L., Tu Y., Ma W., Feng Sh., Yang C., Zhao Y., Wang N., Li Z., Lu L., Zhang J. A potentially important resource: endophytic yeasts. *World J Microbiol Biotechnol.* 2020. V. 36. 110.
- Streletskii R.A., Kachalkin A.V., Glushakova A.M., Yurkov A.M., Demin V.V. Yeasts producing zeatin. *Peer J.* 2019. V. 7. e6474.
- Ignatova L.V., Brazhnikova Y.V., Berzhanova R.Z., Mukasheva T.D. Plant growth-promoting and antifungal activity of yeasts from dark chestnut soil. *Microbiol Res.* 2015. V. 175. P. 78–83.
- Tsavkelova E.A., Klimova S.Yu., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Appl Biochem Microbiol (Moscow).* 2006. V. 42 (2). P. 117–126.
- Duca D., Lörv J., Patten C.L., Rose D., Glick B.R. Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie van Leeuwenhoek.* 2014. V. 106. P. 85–125.
- Jaiboon K., Lertwattanasakul N., Limtong P., Limtong S. Yeasts from peat in a tropical peat swamp forest in Thailand and their ability to produce ethanol, indole-3-acetic acid and extracellular enzymes. *Mycological Progress.* 2016. V. 15 (7). P. 755–770.
- Limtong S., Kaewwichian R., Yongmanitchai W., Kawasaki H. Diversity of culturable yeasts in phylloplane of sugarcane in Thailand and their capability to produce indole-3-acetic acid. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 2014. V. 30 (6). P. 1785–1796.
- Streletskii R.A., Kachalkin A.V., Glushakova A.M., Demin V.V., Chernov I.Y. Quantitative determination of indole-3-acetic acid in yeasts using high performance liquid chromatography—tandem mass spectrometry. *Microbiology.* 2016. V. 85 (6). P. 727–736.

10. Gross B.L., Wedger M. J., Martinez M., Volk G.M., Hale C. Identification of unknown apple (*Malus × domestica*) cultivars demonstrates the impact of local breeding program on cultivar diversity // *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2018. V. 65 (5). P. 1317–1327.
11. Robinson J.P., Harris S.A., Juniper B.E. Taxonomy of the genus *Malus* Mill. (Rosaceae) with emphasis on the cultivated apple, *Malus domestica* Borkh // *Plant Systematics and Evolution*. 2001. V. 226. P. 35–58.
12. Murphy A.M., Pryce-Jones E., Johnstone K., Ashby A.M. Comparison of cytokinin production in vitro by *Pyrenopeziza brassicae* with other plant pathogens // *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 1997. V. 50 (1). P. 53–65.
13. Jameson P.E., Morris R.O. Zeatin-like cytokinins in yeast: detection by immunological methods // *Journal of Plant Physiology*. 1989. V. 135 (4). P. 385–390.
14. Стрелецкий Р.А. Эколого-таксономические аспекты распространения фитогормональной активности среды дрожжей. Дисс. на соиск. ученой степени канд. биол. наук. М.: МГУ, 2017, 132 с.

ФУНГИСТАТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ КАРТОФЕЛЯ В ОТНОШЕНИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

Туама А.А.^{1, 2}, Карамова Н.С.¹, Сабирова З.Р.¹, Сташевски З.³,

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет

²Университет Диялы, Бакуба, Ирак

³ТатНИИСХ – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН

Инфекционные болезни, вызываемые возбудителями грибной природы, являются одной из ведущих причин масштабных потерь в картофелеводстве. Микромицеты способны поражать листья и стебли растений, вызывая при этом закупорку сосудистой системы, что препятствует созреванию клубней и, как следствие, снижает урожайность. Кроме того, микромицеты могут сохраняться в латентной форме в клубнях картофеля, что является причиной ухудшения их качества и потерь урожая во время хранения (Шпар соавт., 2016).

К числу опасных и агрессивных фитопатогенов, поражающих картофель, относятся грибы родов *Rhizoctonia* и *Colletotrichum*. Представители рода *Rhizoctonia* распространены в почве, где они сохраняются в виде мицелия и склероциев, не теряя инфекционных свойств в широком диапазоне температур, влажности и кислотности почвы (Ахатов с соавт., 2013). В целом, грибы р. *Rhizoctonia* являются полифагами, тем не менее выделяют также и субстратспецифичные виды.

Rhizoctonia solani способен вызывать различные заболевания у растений, включая корневую гниль пшеницы; бурую гниль свеклы; ризоктониоз картофеля; стеблей, влагилиц риса и кукурузы; послеуборочную гниль фруктов (Amaradasa et al., 2013; Kaushik et al., 2022). У картофеля ризоктониоз может проявляться в виде черной парши, некроза клубней, а также загнивания глазков, ростков, отмирания столонов и корней, сухой гнили подземной части стебля (Vains et al., 2002).

Микромицеты рода *Colletotrichum* являются возбудителями атракноза и способны поражать разные виды культурных растений, включая картофель, томаты, огурцы, перец, тыкву, манго, папайю, а также злаковые культуры (Полужатова, Берестецкий, 2018). Представители данного рода активно развиваются и проявляют инфекционные свойства при теплой и влажной погоде. Вид *Colletotrichum coccodes* вызывает черную пятнистость клубней картофеля, а также поражения стеблей и листьев, что приводит к значительным потерям урожая (Рязанцев с соавт., 2020; Massana-Codina et al., 2020).

В связи со значительным экономическим ущербом, наносимым микромицетами *Rhizoctonia solani* и

Colletotrichum coccodes, актуальным является поиск новых антимикробных средств, в особенности препаратов природного происхождения, эффективно ингибирующих рост и развитие данных фитопатогенов.

Целью данного исследования явилась оценка фунгистатической активности изолятов эндофитных бактерий *Bacillus* sp. 1 и *Enterobacter* sp. 2, выделенных растений семенного картофеля, в отношении фитопатогенных грибов р. *Rhizoctonia* и *Colletotrichum*.

Материалы и методы

В работе были использованы следующие изоляты эндофитных бактерий: *Bacillus* sp. 1 и *Enterobacter* sp. 2, выделенные из корней и листьев растений картофеля сорта Регги; соответственно.

В качестве тестерных культур были использованы фитопатогенные грибы: *Rhizoctonia solani* VKM F-895 (получен из Института физиологии и биохимии микроорганизмов, г. Пушино), *Colletotrichum coccodes* С18ТКСЗ (получен из кафедры микологии и альгологии МГУ им. М.В. Ломоносова).

Эксперименты по оценке фунгистатической активности проводили с использованием метода агаровых блоков. Изоляты эндофитных бактерий засеивали на поверхность агаризованной питательной среды Luria-Bertani (LA) инкубировали в термостате при 30°C в течение 24 часов. Тестерные культуры грибов сеяли сплошным газонном на питательную среду картофельно-глюкозный агар (КГА) и инкубировали в термостате при 30°C в течение 7-14 суток. Стерильным пробочным сверлом вырезали блоки из газона исследуемых изолятов бактерий и тестерных культур. Агаровые блоки тестерной культуры и изолятов эндофитных бактерий раскладывали на поверхность КГА на расстоянии 5 см друг от друга. Посевы инкубировали при 300С в течение 7-14 суток.

Фунгистатический эффект оценивали по формуле:

$FЭ (\%) = 100 - (X * 100 / K)$, где

X – диаметр колонии фитопатогенного микромицета в присутствии исследуемого изолята бактерий, мм;

K (контроль) – диаметр колонии микромицета в отсутствие исследуемого изолята бактерий, мм.

Результаты исследования

Результаты оценки антагонистической активности эндофитных изолятов *Bacillus sp. 1* и *Enterobacter sp. 2* в отношении фитопатогенных грибов *Rhizoctonia solani* VKM F-895 и *Colletotrichum coccodes* C18TKC3 представлены в таблице 1. Изолят *Bacillus sp.* вызывает ингибирование роста *Rhizoctonia solani* VKM F-895 на 66.2%, а изолят

Enterobacter sp. – на 51.2%. Фунгистатическая активность изолята *Bacillus sp.* в отношении возбудителя атракноза *Colletotrichum coccodes* C18TKC3 составляет 59%, а изолята *Enterobacter sp.* – 60.6 %.

Таблица 1. Фунгистатический эффект изолятов эндофитных бактерий *Bacillus sp. 1* и *Enterobacter sp. 2* в отношении *Rhizoctonia solani* VKM F-895 и *Colletotrichum coccodes* C18TKC3

Фитопатогены	Фунгистатический эффект, %	
	<i>Bacillus sp. 1</i>	<i>Enterobacter sp. 2</i>
<i>Rhizoctonia solani</i> VKM F-895	66.2 %	51.2 %
<i>Colletotrichum coccodes</i> C18TKC3	59.0 %	60.6 %

Таким образом, полученные результаты показывают, что исследованные изоляты эндофитных бактерий, выделенные из растений картофеля, обладают выраженным фунгистатическим потенциалом и подавляют рост возбудителей опасных болезней растений. Данный факт свидетельствует о перспективности применения эндофитных изолятов *Bacillus sp. 1* и *Enterobacter sp. 2* при создании био-препаратов для экологичных систем биоконтроля фитопатогенов картофеля.

Список литературы

1. Шпар Д., Быкин А., Дрегер Д и др. Картофель, Выращивание, уборка, хранение/ Под общей редакцией Д. Шпара. М.: ООО «ДЛВ АГРОДЕЛО», 2016 – 45 с.
2. Ахатов А.К., Ганнибал Ф.Б., Мешков Ю.И. и др. Болезни и вредители овощных культур и картофеля, М.: Товарищество научных изданий КМК, 2013. – 463 с.
3. Amaradasa B.S., Horvath B.J., Lakshman D.K., and Warnke S.E. (). DNA fingerprinting and anastomosis grouping reveal similar genetic diversity in *Rhizoctonia* species infecting turfgrasses in the transition zone of USA // *Mycologia* – 2013. V. 105. – P. 1190–1201. doi: 10.3852/12-368.
4. Kaushik A, Roberts D.P., Ramaprasad A. et al. Pangenome Analysis of the Soil borne Fungal Phytopathogen *Rhizoctonia solani* and Development of a Comprehensive Web Resource: RsolaniDB // *Front. Microbiol.* – 2022. V. 13:839524. doi: 10.3389/fmicb.2022.839524.
5. Bains P.S., Bennypau H.S., Lynch L.D.R., Kawchuk L.M., and Schaupmeyer C.A. *Rhizoctonia* Disease of Potatoes (*Rhizoctonia solani*): Fungicidal Efficacy and Cultivar Susceptibility // *Amer J of Potato Res.* – 2002. – V.79. – P. 99-106.
6. Полуэктова Е.В., Берестецкий А.О. Грибы рода *Colletotrichum* как продуценты биологически активных соединений и биогербицидов // *Микология и фитопатология.* – 2018. – Т.52, № 6. – С. 367-380.
7. Рязанцев Д.Ю., Чудинова Е.М., Кокаева Л.Ю. с соавт. Детекция *Colletotrichum coccodes* с помощью ПЦР в реальном времени // *Микология и фитопатология.* – 2020. – Т. 54, № 1. – С. 42-48.
8. Massana-Codina J., Schnee S., Allard P-M. et al. Insights on the Structural and Metabolic Resistance of Potato (*Solanum tuberosum*) Cultivars to Tuber Black Dot (*Colletotrichum coccodes*) // *Front. Plant Sci.* –2020. – V. 11:1287. doi: 10.3389/fpls.2020.01287.

АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ STREPTOMYCES MASSASPOREUS CNMN-AC-06 К ФИТОПАТОГЕННЫМ ГРИБАМ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ ПЕРЕСЕВАМИ И ЛИОФИЛИЗАЦИИ

Васильчук А.В., Гарбузняк А.А., Бырса М.Н., Бурцева С.А.
Институт Микробиологии и Биотехнологии, Кишинёв, Республика Молдова

Использование микроорганизмов и их метаболитов для защиты растений от болезней и вредителей стало одним из приоритетных направлений в системе интегрированных методов борьбы с вредными организмами. Пристальное внимание актинобактерии всегда привлекали и привлекают ученых различных специальностей в связи с выявлением резко выраженной способности организмов этой группы синтезировать широкий круг соединений, обладающих антибиотическими свойствами. В настоящее время актуальной проблемой является поиск новых антибиотиков, в связи с распространением устойчивости патогенных микроорганизмов к существующим антибактериальным препаратам. Род *Streptomyces* является самым крупным родом, синтезирующим антибиотики и используется с 1940-1950 г. в промышленном производстве антибиотиков, используемых фармацевтической промышленностью.

Актинобактерии рода *Streptomyces* являются одной из наиболее продуктивных и перспективных групп микроорганизмов в отношении сферы их применения [1-3]. С их помощью получают антибиотики, ферменты, гормоны, витамины, нейролептические средства, стимуляторы роста растений и животных, которые нашли применение в таких отраслях как медицина, ветеринария, растениеводство и пр. [4-6]. Особое внимание привлекают актинобактерии научное сообщество, т.к. продуцируют более половины из всех известных на сегодняшний день биологически активных соединений [7]. К настоящему времени известно несколько тысяч антибиотиков, продуцентами которых являются стрептомицеты (свыше 70 %).

По данным Красильникова, штамм *Streptomyces massasporeus* способен подавлять рост Грамотрицательных бактерий, грибов, дрожжей [8]. Проведенные нами ранее исследования показали, что выделенный из почвы центральной части Молдовы штамм *S. massasporeus* CNMN-AC-06 и его естественные варианты проявляют антимикробные свойства по отношению к низшим грибам и дрожжам [9]. Также установлено, что после длительного хранения основная культура сохранила способность задерживать рост ряда тест-культур, в том числе и фитопатогенных грибов [10].

В настоящее время существенный вред культивируемым растениям наносят около 1,5 тыс. различных возбудителей болезней, более 10 тыс. видов насекомых, 1,0 тыс. видов нематод и свыше 1,8 тыс. видов сорняков. К примеру, в США урожайность сельскохозяйственных культур может снижаться под влиянием 16 видов бактерий, 250 вирусов, 8 тыс. патогенных грибов и 2000 сорняков. Более чем 30-летний опыт активной химической борьбы с вредителями показал полную бесперспективность одностороннего, базирующегося преимущественно на использовании пестицидов, подхода к обеспечению экологического равновесия в интенсивных агроэкосистемах. Ежегодно до 40 % потенциальной сельхозпродукции уничтожается, стоимость мировых потерь которой составляет около 20-25 % получаемой сельхозпродукции [11].

Целью исследований было выявить изменения в способности задерживать рост фитопатогенных грибов штаммом *Streptomyces massasporeus* CNMN-AC-06 после длительного хранения периодическими пересевами и лиофилизации.

Материалы и методы. Объектом исследования послужил штамм *Streptomyces massasporeus* CNMN-AC-06, выделенный из почвы центральной части Республики Молдова. Длительное хранение штамма обеспечивали периодическими пересевами на агаризованной среде Чапека с глюкозой и в лиофильном виде. Антифунгальную активность определяли методом диффузии в агар, используя агаровые блочки [5]. Для определения антифунгальной активности, штамм культивировали на среде Чапека с глюкозой (рН: 7,0). В качестве тест-культур использовали фитопатогенные грибы *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*; которые культивировали на сусло-агаре (5,0°B_{lg}, рН: 5,8-6,0) [12].

Результаты и обсуждение. На первом этапе исследований был проведен сравнительный анализ антимикробных свойств исследуемого штамма после длительного хранения периодическими пересевами.

Таблица 1. Действие метаболитов штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-AC-06 на фитопатогенные грибы после длительного хранения периодическими пересевами на агаризованной среде Чапека с глюкозой

Тест-культура	Диаметр зон задержки роста тест-культур, мм			
	Время хранения			
	1999 г.	2005 г.	2016 г.	% к контролю (1999)
<i>Alternaria alternata</i>	10.0	9.8±0.6	9.4±0.8	94.0 %
<i>Aspergillus niger</i>	10.0	9.6±0.5	9.1±0.3	91.0 %
<i>Botrytis cinerea</i>	-	17.0±0.8	14.0±0.6	82.3 %
<i>Fusarium solani</i>	17.0	16.5±0.6	15.0±0.3	88.2 %

Примечание: «-» исследования не проводились.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, зона задержки роста фитопатогенного гриба *Alternaria alternata*, вызывающего т.н. оливковую плесень риса или альтернариоз составила в 1999 г. – 10.0 мм, в 2005 и 2016 году существенно не изменилась и составила 9.8±0.6 мм и 9.4±0.8 мм, соответственно. Обнаружено незначительное изменение антимикробной активности против фитопатогенного гриба *Fusarium solani*, вызывающего корневую гниль сои. У этой тест-культуры диаметр зоны задержки роста составил около 17.0 мм после культивирования штамма на агаризованной среде Чапека в 1999 г., и в 2005 г. – 16.5±0.6 мм и 15.0±0.3 мм – 2016 г., соответственно. Замечено снижение антимикробного действия исследуемого штамма против *Botrytis cinerea*, вызывающего кагатную гниль сахарной свеклы: в 2005 г. – 17.0±0.8 мм и в 2016 г. – 14.0±0.6 мм. Наи-

меньший диаметр зоны задержки роста был у *Aspergillus niger* и составил в 1999 г. – 10.0 мм, в 2005 г. – 9.6±0.5 мм и 9.1±0.3 мм в 2016 г. Анализируя антимикробную активность штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ас-06 к остальным тест-культурам можно сделать вывод, что после длительного хранения методом периодических пересевов и культивирования штамма на агаризованной среде Чапека она уменьшалась по сравнению с 2005 г., эти изменения можно объяснить большой гетерогенностью исследуемого штамма.

Следующим этапом было изучение изменения антимикробной активности штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ас-06 против фитопатогенных грибов после 1, 2, 3 года хранения в лиофильном виде.

Таблица 2. Антифунгальная активность штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ас-06 после хранения в лиофилизированном виде

Тест-культуры	Диаметр зон задержки роста тест-культур, мм							
	до лиофилизации (2019г.)		После 1 года хранения (2020г.)		После 2-х лет хранения (2021г.)		После 3-х лет хранения (2022г.)	
	мм	% к К	мм	% к К	мм	% к К	мм	% к К
<i>A. alternata</i>	10.0±0.8	100.0	9.9±0.7	99.0	9.8±0.4	98.0	9.3±0.1	93.0
<i>A. niger</i>	14.0±0.3	100	13.7±0.4	98.6	13.5±0.7	96.4	13.2±0.3	94.2
<i>B. cinerea</i>	14.0±0.6	100	13.6±0.3	97.1	13.5±0.4	96.4	13.2±0.4	94.2
<i>F. solani</i>	15.0±0.3	100	14.1±0.5	94.0	14.0±0.5	93.3	13.8±0.6	92.0

Из приведенных в таблице данных влияния хранения исследуемого штамма по годам видно, что антимикробная активность метаболитов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ас-06 против фитопатогенных грибов снижается в сравнении с таковой до лиофилизации. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что в большей степени у штамма уменьшение способности задерживать рост наблюдалось по отношению к грибам рода *F. solani*, а к остальным исследуемым штаммам после хранения в лиофильном виде сохранял относительную стабильность.

Выводы. Таким образом, проведенные исследования показали, что после длительного хранения периодически пересевами способность метаболитов штамма задерживать рост фитопатогенных грибов снизилась до 82.3-94.0 %, а после лиофилизации – до 92.0-94.2 % от исходной, в зависимости от индивидуальных особенностей того или иного тест-микроорганизма (в частности, фитопатогенного гриба).

Исследования финансировались в рамках проекта 20.80009.7007.09 (ANCD).

Список литературы

- Berdy J. Bioactive microbial metabolites. In: J. Antibiotics, 2005, vol. 58, p. 1-26.
- Demain A.L. Pharmacologically active secondary metabolites of microorganisms. In: Applied Microbiology and Biotechnology, 1999, vol. 52: 455-463.
- Hopwood D. *Streptomyces* in nature and medicine. The Antibiotic Makers. New York: Oxford University Press, 2007. 250 p.

- Palmer T., Hutchings M. Protein Secretion in *Streptomyces*. In: *Streptomyces: Molecular Biology and Biotechnology*, 2011, vol. 4: 87-104.
- Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. 2004. М.: Наука: 528 с.
- Жерносекова И.В. и др. Аспекты практического применения лизорецифина - препарата с бактериолитическим ростстимулирующим действием. В: Вестник ДНУ, 2001, вып. 8, т. 1: 126-132.
- Demain A.L. Pharmacologically active secondary metabolites of microorganisms. In: *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1999, vol. 52: 455-463.
- Красильников Н.А. Лучистые грибки. Москва: Наука, 1970. 536 с.
- Toderaş A. Particularitățile fiziologo-biochimice și biotehnologice ale tulpinii *Streptomyces massasporeus* 36 ca producător al substanțelor biologice active. Autoref. tezei de dr. șt. biologice. Chișinău, 2000. 21 p.
- Братухина А.А. Естественная изменчивость и биосинтетическая активность актиномицетов *Streptomyces massasporeus*. Дисс. к.б.н. Кишинев, 2012. 151 с.
- Куликов Я.К. Агроекология. 2012. Издательство: Высшая школа. 319 с.
- Krassilnikov, N.A., Husein A. Biology of selected groups of Actinomycetes. Published for the U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service and the National Science Foundation Washington, D.C. by the Indian National Scientific Documentation Centre, New Delhi, 1974. 245-246.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ МИКРОБОКСОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ГОРОХА, УЧАСТВУЮЩИХ В ПУТИ БИОСИНТЕЗА КУТИНА, ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ РАСТЕНИЙ АРБУСКУЛЯРНО-МИКОРИЗНЫМИ ГРИБАМИ И КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Зорин, Е.А., Штарк, О.Ю., Романюк, Д.А., Кулаева, О.А., Афонин, А.М., Гордон, М.Л., Жернаков, А.И., Ахтемова, Г.А., Жуков, В.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин

Бобовые растения вступают во взаимовыгодные взаимодействия (симбиозы) с микроорганизмами, обитающими в почве: арбускулярно-микоризными грибами (АМГ) и азотфиксирующими клубеньковыми бактериями (КБ). При этом в клетках корней образуются специальные симбиотические структуры, обеспечивающие поступление в растение элементов питания, таких как азот и фосфор. Процессы проникновения и распространения микросимбионтов и выполнение ими симбиотических функций контролируются симбиотическими генами растений, включая гены общего симбиотического пути (1-3). В то же время недостаточно изучены механизмы системной регуляции развития арбускулярной микоризы (АМ) и, в частности, гифоподиев – концевых структур грибных гиф и служащих для прикрепления АМГ к поверхности корня.

Ранее нами обнаружено, что в закрытых контейнерах (микробоксах) для выращивания растений, накрытых крышкой (условия 1, или У1; см. рисунок) у гороха не образуется АМ, тогда как клубеньки образуются. Этот феномен не описан в литературе. Предполагается, что отсутствие АМ в У1 связано с подавлением биосинтеза кутина, поскольку известно, что ген растений RAM2, кодирующий ключевой фермент этого пути (4), также необходим для развития АМ, в т.ч. гифоподиев, и не участвует в развитии клубеньков (5). Кроме того, в подобных условиях растения образуют более тонкую кутикулу (6). Примечательно, что корневые культуры, поддерживаемые *in vitro* (root organ culture), микоризуются и активно используются в лабораториях (7). Поэтому можно предположить, что в подавлении биосинтеза мономеров кутина в корнях целого растения могут участвовать механизмы системной регуляции, основанные на восприятии, например, уровня влажности воздуха надземной частью растения.

Целью данного исследования являлся анализ экспрессии генов, продукты которых связаны с биосинтезом кутина и кутикулярного воска, в надземных частях (НЧ) и кор-

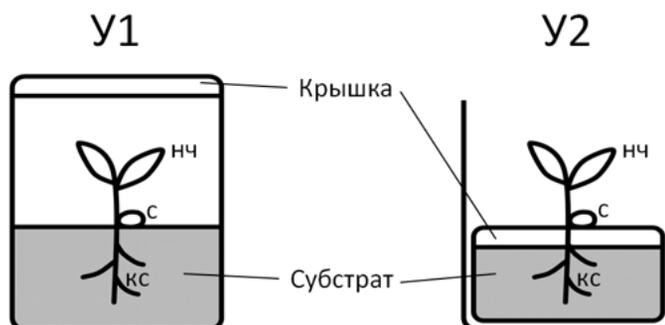
невых системах (КС) растений гороха, инокулированных АМГ, КБ и контрольных (без инокуляции), выращенных в двух вариантах условий микробоксов (рисунок).

Материалы и методы

Семена гороха (*Pisum sativum* L.), линия Frisson, стерилизовали H₂SO₄ (конц.) в течение 10 мин, промывали стерильной водой и проращивали на чашках с 1% агар-агаром в течение 3 суток. Для выращивания растений использовали минеральный субстрат, содержащий смесь кварцевого песка и опоки (1:1 об.), стерилизованный автоклавированием при 134°C и 0,22 МПа в течение 60 мин. Перед посадкой субстрат увлажняли питательным раствором без азота и доступного фосфора следующего состава: макроэлементы (ммоль/л): Ca₃(PO₄)₂ – 2,0, MgSO₄·7H₂O – 4,0, K₂SO₄ – 5,0; микроэлементы (мкмоль/л): H₃BO₃ – 73,55, MnSO₄·5H₂O – 18,26, ZnSO₄·7H₂O – 1,53, CuSO₄·5H₂O – 0,64, (NH₄)₂MoO₄ – 0,20, CoCl₂·6H₂O – 0,21, NaFe-ЭДТА – 37,9, в объеме 50 мл на одно растение.

Для выращивания растений гороха использовали полипропиленовые контейнеры с крышкой (SacO₂, Deince, Belgium) объемом 5000 мл (TP5000+TPD5000) и 540 мл (OV80+OVD80), оснащенные зелёным воздушным фильтром (№ 40). Для создания У1 микробокс TP5000 наполняли субстратом на одну треть, помещали в него 4 проростка гороха и накрывали крышкой TPD5000. Для условий 2 (У2) микробоксы OV80 (2 шт.) наполняли доверху субстратом, накрывали крышкой OVD80 и помещали внутрь микробокса TP5000, который оставляли открытым. Корешки проростков гороха (2 шт.) помещали внутрь микробоксов OVD80 через заранее проделанные отверстия в крышках. Семядоли крепили к поверхности крышки с помощью пластилина, автоклавированного в течение 30 мин при 112°C и 0,05 МПа.

Рис. Схематичное изображение условий выращивания растений гороха в микробоксах: У1 (условия 1; АМ не образуется) – растение целиком помещено в закрытый микробокс. У2 (условия 2; АМ образуется) – корневая система находится в закрытом микробоксе. НЧ – надземная часть растения; КС – корневая система; С – семядоли.



Для инокуляции растений использовали либо изолят АМГ *Rhizophagus irregularis* DAOM197198 в виде свежих микоризованных корней *Plectranthus australis*, поверхностно стерилизованных (7), 0,4 г на растение, либо жидкую культуру КБ *Rhizobium leguminosarum* *bv. viciae*, штамм RCAM1026, 104 КОЕ/растение. Инокуляционный материал вносили в углубления в субстрате перед посадкой в них проростков.

Растения выращивали в условиях климатической камеры (Heraeus V-tch, Германия) в режиме (день/ночь): 16/18 ч, 24/22°C, освещенность – около 10000 люкс. Через 4 недели вегетации растения извлекали из микробоксов, и образцы КС и НЧ замораживали в жидком азоте (по 4 биологические повторности). Образцы хранили при -80°C. Анализ развития АМ проведен с использованием световой микроскопии по методике, описанной в работе (8).

Тотальную РНК из образцов измельченных КС и НЧ гороха выделяли с использованием реагента PureZOL (BioRad), согласно протоколу производителя. ДНКазную обработку выделенной РНК проводили с использованием DNase I (ThermoFisher Scientific) с последующей очисткой хлороформом и осаждением этанолом. Качество выделенной РНК оценивали с использованием системы автоматического электрофореза Agilent Tape Station (Agilent Technologies). Концентрацию РНК оценивали с использованием флуориметра Qubit и набора Qubit RNA BR Assay Kit (ThermoFisher Scientific). Библиотеки для секвенирования с использованием методологии MACE-Seq (9) подготовлены с использованием MACE-Seq Kit (GenXPro GmbH, Frankfurt, Germany). Секвенирование библиотек произведено компанией Macrogen (Сеул, Корея) с использованием платформы Illumina HighSeq X. Анализ качества прочтений каждого из образцов проводили при помощи fastqc (10), затем объединяли полученные результаты при помощи MultiQC (11). Выравнивание и количественный анализ проводили при помощи STAR (12); как референс использовали геном линии *P. sativum* Frisson, структурная аннотация которого включает 66957 генов. Анализ дифферен-

циальной экспрессии проводили с использованием пакета DESeq2 (13) в среде R (14).

Результаты и обсуждение

Растения, выращенные в У1, не формировали ни фуподии, ни внутрикорневой мицелий. Растения, выращенные в У2, формировали нормальный внешний и внутрикорневой мицелий. Растения, инокулированные КБ, формировали клубеньки во всех испытываемых условиях.

Для анализа экспрессии были выбраны гены растений, кодирующие несколько последовательных стадий пути биосинтеза кутина (4). Ген LACS2 (LONG-CHAIN ACYL-COENZYME A SYNTHASE2) кодирует фермент, участвующий в одной из самых ранних стадий биосинтеза кутина и воска – превращении жирной кислоты C16/C18 в ацил-КоА. CYP86A4 кодирует гидроксилазу семейства CYP86A цитохромов P450, участвующую в гидроксировании ацил-КоА. RAM2 кодирует глицерол-3-фосфат ацилтрансферазу (GPAT6), которая осуществляет перенос гидроксированного ацил-КоА на глицерин с образованием 2-моноацилглицериновых эфиров мономеров кутина. ABCG11 и ABCG32 (ATP-BINDING CASSETTE G11,32) кодируют белки-переносчики, необходимые для отложения кутина на поверхности клеточной стенки, а ABCG11 – и воска. CD1 (CUTIN DEFICIENT1) кодирует кутинсинтазу/гидроксиацилглицеролтрансэстеразу, участвующую в полимеризации мономеров кутина.

Экспрессия RAM2 значительно повышалась в КС при инокуляции АМГ в У2, где образовывалась АМ (Таблица), что согласуется с данными об АМ-специфичности экспрессии RAM2 в корнях (15). Повышение экспрессии RAM2 наблюдалось также в НЧ в У2 (Таблица), особенно в варианте с АМГ, предполагая, что биосинтез мономеров кутина происходил во всем растении более интенсивно.

Примечательно, что гены, экспрессия которых повышалась в У1, понижали ее в У2 и наоборот. Причем в У2 повы-

Таблица. Относительная нормализованная экспрессия генов пути биосинтеза кутина и воска в корнях и надземных частях растений гороха, выращенных в различных условиях микробоксов и инокуляции

Гены	Варианты инокуляции и условия микробоксов					
	Контроль		АМГ		КБ	
	У1	У2	У1	У2	У1	У2
Корневые системы						
LACS2	0	0	0	0	32(±6,8)	24(±7,1)
RAM2	0	0	0	20(±9,2)	0	0
CYP86A4	0	12(±4,8)	0	0	12(±0,9)	0
ABCG11	0	0	0	0	0	8(±1,7)
ABCG32	0	8(±1,2)	0	0	0	0
CD1	0	12(±3,09)	0	0	8(±1,2)	20(±3,5)
Надземные части						
LACS2	2(±1,7)	1(±0,5)	1(±0,9)	1(±0)	1(±0,5)	1(±0,9)
RAM2	6(±1,7)	21(±4,9)	8(±6,1)	34(±11,7)	4(±1,4)	6(±2,08)
CYP86A4	35(±2,8)	4(±2,3)	27(±1,8)	3(±3)	35(±9,1)	79(±12,9)
ABCG11	66(±4,4)	59(±12,4)	70(±11,7)	38(±5,8)	47(±11,6)	52(±9,2)
ABCG32	33(±4,9)	12(±5,1)	30(±6,4)	6(±5,2)	22(±4,5)	25(±2)
CD1	104(±15,6)	2(±1,7)	128(±22,9)	3(±2)	140(±50,8)	168(±24,06)

шалась экспрессия RAM2 в НЧ, а экспрессия генов, кодирующих предшественник его продукта CYP86A4, а также транспортеры ABCG11 и ABCG32 и кутинасинтазу CD1, наоборот, понижалась. Это наблюдалось только в варианте с АМГ и в контроле; при инокуляции КБ практически не было различий между У1 и У2. Мономеры кутина должны транспортироваться на поверхность клеточной стенки корней, так как от них, наиболее вероятно, зависит образование гифоподиев АМ грибов на поверхности корней (15). Также известно, что ABCG11 участвует в биосинтезе суберина (16).

Экспрессия LACS2 повышалась только в НЧ в контроле в У1 (Таблица). Поскольку экспрессия RAM2 в данных условиях не повышалась, можно предположить, что равновесие смещалось в сторону пути образования кутикулярного воска, где LACS2 также является одним из первых продуктов. Либо повышение экспрессии этого гена связано с недостаточным синтезом обоих конечных продуктов. В то же время непонятно, почему этого не происходило в вариантах с инокуляцией АМГ и КБ.

В КС экспрессия некоторых генов пути биосинтеза кутина/воска также повышается в контроле (У2) и в вариантах с КБ (Таблица). В КС растений, инокулированных КБ и контрольных, в У2 повышалась экспрессия CD1. В первом случае это может быть связано с образованием клубеньков, согласно данным о вероятной важности синтеза кутина для образования клубеньков (17).

Таким образом, полученные результаты частично подтверждают предположение о том, что причиной отсутствия АМ у гороха в У1 может быть дефицит мономеров кутина в КС, как следствие изменений в НЧ. Для более полного понимания исследуемого феномена необходимо изучение всего многообразия генов, участвующих в синтезе кутина и воска.

Исследование поддержано грантом РФФИ 20-04-01136.

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ ГРИБНОЙ И БАКТЕРИАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ В КОРНЕОБИТАЕМОЙ ЗОНЕ РАСТЕНИЙ ПРИМЕНИТЕЛЬНО К УСЛОВИЯМ ВЫРАЩИВАНИЯ В КОСМИЧЕСКОЙ ВИТАМИННОЙ ОРАНЖЕРЕЕ ДЛЯ РОССИЙСКОГО СЕГМЕНТА МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ

Ильин В.К., Коршунов Д.В., Морозова Ю.А.,

Дешева Е.А., Беркович Ю.А., Иванова А.А., Смолянина С.О.

*Государственный научный центр Российской Федерации –
Институт медико-биологических проблем РАН, Москва*

Неуклонно возрастающая антропогенная нагрузка на природные биологические сообщества и интенсивное развитие искусственных экологических систем, включая активно разрабатываемые биорегенеративные системы жизнеобеспечения экипажей в длительных космических экспедициях, делают актуальной проблему исследования сложных экологических взаимосвязей в многовидовом сообществе живых организмов. Среди методов и средств защиты растений преобладающим остается использование химических пестицидов. Несмотря на свою эффективность, химический метод имеет ряд недостатков – загрязнение окружающей среды, разрушающее экологические взаимосвязи и биологическое равновесие в природных биогеоценозах, накопление остаточных количеств химических средств защиты в сельскохозяйственной продук-

Список литературы

1. Genre A., Russo G., 2016. *Front Plant Sci*, 7:96
2. Pimprikar P., Gutjahr C. 2018. *Plant Cell Physiol*, 59:678-695
3. Müller L.M., Harrison M.J. 2019. *Curr Opin Plant Biol*, 50:132-139
4. Yeats T.H., Rose J.K.C., 2013. *Plant Physiol*, 163:5-20
5. Gobbato E., Marsh J.F., Vernié T. et al. 2012. *Curr Biol*, 22:2236-2241
6. Pospíšilová J., Tichá I., Kadleček P. et al. 1999. *Biol Plantarum*, 42(4):481-497
7. Declerck S., Strullu D. G., Fortin A. 2005. *In vitro culture of mycorrhizas (Vol. 4)*. Springer Science & Business Media
8. Shtark O.Y., Sulima A.S., Zhernakov A.I. et al. 2016. *Symbiosis*. 2016. 68:129-144
9. Zhernakov A., Rotter B., Winter P. et al. 2017. *Genomics Data* 11: 75-76
10. Andrews S., Krueger F., Segonds-Pichon A. et al. 2010. *FastQC. A quality control tool for high throughput sequence data*, 370.
11. Ewels P., Magnusson M., Lundin S., Käller M. 2016. *MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report*. *Bioinformatics*, 32(19):3047-3048
12. Dobin A., Davis C. A., Schlesinger F. et al. 2013. *Bioinformatics*, 29(1):15-21
13. Love M.I., Huber W., Anders S. 2014. *Genome Biol*, 15(12):1-21.
14. R Core Team. 2020. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing.
15. Wang E., Schornack S., Marsh J.F. et al. 2012. *Curr Biol*, 22(23):2242-2246
16. Panikashvili D., Shi J.X., Bocobza S. et al. 2010. *Mol Plant*, 3:563-575
17. Zhang G., Ahmad M.Z., Chen B., et al. 2020. *Plant J*, 103(4):1351-1371

ции, что, в свою очередь, представляет серьезные риски для здоровья населения, высокая стоимость фунгицидов, а также формирующаяся резистентность фитопатогенов [1, 2]. Вышеназванные проблемы еще более остро стоят в биолого-технических системах жизнеобеспечения в пилотируемых космических аппаратах, где необходимость поддержания устойчивого функционирования фототрофного звена сочетается с требованием минимизации химического загрязнения внутренней среды. В настоящее время значительный объем исследований сосредоточен на альтернативных методах защиты растений, одним из которых является биологический контроль с помощью микроорганизмов [2, 3]. Биологический метод борьбы с болезнями растений основан на использовании бактерий и грибов, а также их метаболитов, подавляющих развитие фитопато-

генных микроорганизмов либо повышающих естественный иммунитет растения к заболеваниям [4, 5]. Однако на борту растения выращивают в специфической корнеобитаемой среде, которая может оказывать существенное влияние на количественные и качественные характеристики ризосферного микробного сообщества, чувствительного к условиям внешней среды [6, 7]. В частности, для космической витаминной оранжереи «Витацикл», изготавливаемой в настоящее время для Российского сегмента МКС, предложена технология выращивания растений на гидрофильных пористых мембранах в сочетании с волокнистым ионитным почвозаменителем [8]. Изучение особенностей формирования и жизнедеятельности микробного консорциума в корнеобитаемой зоне растений, выращиваемых в различных корневых средах, с целью выявления среди них потенциальных биопротекторов, могут быть полезны при разработке биологических методов защиты растений как в космическом растениеводстве, так и на Земле.

Исследовали особенности формирования микробного сообщества в корнеобитаемой зоне растений при выращивании их на гидрофильных мембранах из мелкопористого титана в сочетании с волокнистым ионитным почвозаменителем «БИОНА-ВЗ-ИМПАКТ» (ИФОХ, Беларусь). Объектом исследований явилась капуста китайская *Brassica chinensis* L., сорт Веснянка селекции ВНИИССОК. В серии из 5 вегетационных 24-суточных экспериментов растения выращивали в корневых модулях прямоугольной формы размерами 20x5x2 см, оборудованных двойным дном, верхнее из которых представляло собой гидрофильную пористую мембрану. В каждом корневом модуле поверх мембраны был уложен слой волокнистого ионообменного почвозаменителя толщиной 0,5 см, предварительно автоклавированного в течение 30 мин при давлении, равном 1 атм. Каждый корневой модуль был соединен с резервуаром, заполненным стандартным питательным раствором Чеснокова в дозе 0,5 нормы. Питательный раствор поступал в подмембранное пространство и – через пористую мембрану – в волокнистый почвозаменитель. Все параметры внешней среды поддерживали в благоприятном для растений диапазоне на протяжении всей вегетации. Микробиологические пробы отбирали на 12-е, 16-е, 20-е, 22-е и 24-е сутки вегетации ватными тампонами с поверхности гидрофильных мембран, а также с поверхности корней, вырезая из корневого мата сегменты массой 0,1 – 0,2 г и помещая их в стерильные пробирки, добавляли по 10 мл стерильной дистиллированной воды и встряхивали на вортексе в течение 15 сек, чтобы добиться перехода микроорганизмов в воду. Полученные суспензии высевали на чашки Петри с различными микробиологическими средами.

Во всех проведенных экспериментах в процессе 24-суточной вегетации не было выявлено каких-либо отклонений в росте и развитии растений, а также признаков инфекционных заболеваний или физиологических расстройств. В период с 12 по 24 сутки вегетации накопление биомассы растениями возрастало экспоненциально; средняя сырая масса растения в этот период увеличилась в 11 раз, а сухая масса – в 13 раз. Микробиологический анализ корнеобитаемой зоны растений показал, что на корнях и внутренних поверхностях КМ присутствовали представители как бактериальной, так и грибной микрофлоры. Плотность бактериальной контаминации корнеобитаемой зоны, в расчете на 1 г сырой массы корней, экспоненциально возрастала в период с 12 по 20 сутки вегетации, в этот же период наблюдали интенсивный рост корневой системы. Динамика численности грибной микрофлоры в корнеобитаемой зоне имела сложный характер: в период с 12-х по 16-е сутки

вегетации отмечали относительно медленное увеличение числа КОЕ/г сырой массы корня, с 16-х по 20-е сутки вегетации этот показатель стабилизировался на уровне около (1,5•10³) КОЕ/г, в последующие двое суток наблюдали резкий, на порядок, рост численности микромицетов, и в последние двое суток вегетации отмечали такое же резкое снижение их численности. Важно отметить, что изменение численности микромицетов находилось в противофазе с бактериями р. *Pseudomonas* sp., что указывает на существование конкурентных и/или антагонистических отношений между этими группами микроорганизмов. В то же время другие компоненты бактериальной микрофлоры, в частности, представители р. *Bacillus* sp., практически не влияли на представителей грибной микрофлоры. Полученные результаты свидетельствуют, что в корнеобитаемой зоне здоровых растений при выращивании по технологии применительно к космической витаминной оранжерее формируется сложный бактериально-грибной консорциум, между отдельными компонентами которого устанавливается динамическое равновесие. Детализация количественных и качественных характеристик микробного сообщества в корневых модулях космической оранжереи является важным звеном в разработке технологии культивирования растений на борту космического корабля.

Список цитируемых источников

- Gerhardson B (2002) Biological substitutes for pesticides. *Trends Biotechnol* 20:338–343. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(02\)02021-8](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(02)02021-8)
- Ланкина Е.П., Хижняк С.В. Бактериальные сообщества пещер как источник штаммов для биологической защиты растений от болезней / Е.П. Ланкина, С.В. Хижняк; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2012. – 126 с.
- Pandey PK, Samanta R, Yadav RNS (2015) Plant beneficial endophytic bacteria from the ethnomedicinal *Mussaenda roxburghii* (Akshap) of Eastern Himalayan province, India. *Adv Biol* 580510:8. <https://doi.org/10.1155/2015/580510>
- Родовиков С.А., Чураков А.А., Попова Н.М., Хижняк С.В. Почвенные микробные сообщества как источник штаммов для биологической защиты сои от фузариоза в приенисейской Сибири // Вестник НВГУ. Экология растений. 2020. № 2. С. 4–11.
- Хижняк С.В., Петрушкина С.А., Чернов В.Е., Ушакова С.А., Тихомиров А.А. Автохтонное микробное сообщество как потенциальный источник штаммов-антагонистов для биологической борьбы с фузариозом пшеницы в биолого-технических системах жизнеобеспечения // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2020. Т.54. №3. С. 84–91. DOI: 10.21687/0233-528X-2020-54-3-84-91
- Хижняк С.В., Демиденко Г.А., Борщевская Е.В. Влияние культуры на антагонистическую активность ризосферных бактерий в отношении фитопатогенных грибов р. *Fusarium* // Вестник КрасГАУ. Экология. 2013. №8. С. 118–121
- Пучкова Е.С., Гаас М.В. Сравнительная оценка встречаемости микроорганизмов-антагонистов к фитопатогенным грибам *Bipolaris* sp. При разных способах обработки почвы // Инновационные тенденции развития российской науки: материалы XIII международ. науч.-практ. конф. молод. учен. Часть I/Краснояр. гос. аграр. ун-т. – 2020. – С. 5–11.
- Berkovich Yu.A., Krivobok N.M., Krivobok A.S., Smolyanina S.O. Advanced nutrient root-feeding system for conveyor-type cylindrical plant growth facilities for microgravity // *Life Sciences in Space Research*. – 2016. №8. P. 14–21.

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ
Current Mycology in Russia

Том 9

Volume 9

Выпуск 4.
Сельскохозяйственная
МИКОЛОГИЯ

Issue 4.
Fungal problems in agriculture

Глава 8.
Фитопатогенные грибы
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.08

Chapter 8.
Phytopathogenic fungi
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.08

Содержание выпуска 4

Глава 8. Фитопатогенные грибы

ВЫДЕЛЕНИЕ ФИТОПАТОГЕННЫХ И ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ ИЗ САКСАУЛА ЧЕРНОГО (<i>HALOXYLON ARHYLLUM</i> (MINKW.) ILJIN) И ДВУХ ВИДОВ ТАМАРИКСА (<i>TAMARIX HISPIDA</i> WILLD., <i>TAMARIX RAMOSSISIMA</i> LEDEB.) ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ПУСТЫНЕ АРАЛКУМ	
Б.Ш. Адилов, А.Г. Шеримбетов, Д.Р. Рузметов	238
ФИЛОГЕНИЯ И РАЗНООБРАЗИЕ ВИДОВ РОДА <i>CLONOSTACHYS</i> НА ПАСЛЕНОВЫХ РАСТЕНИЯХ	
Албантов Г.П., Еланский С.Н., Белосохов А.Ф.	240
РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ БОЛЕЗНЕЙ НА БОБАХ КОРМОВЫХ (<i>VICIA FAVA</i> L.) В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ	
Ашмарина Л.Ф.	243
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПЕРМАНГАНАТА КАЛИЯ НА ЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ МУЧНИСТОЙ РОСОЙ	
Аветисян Г.А., Аветисян Т.В.	246
ПРОБЛЕМА СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЫ В ПОВОЛЖЬЕ	
Баранова О.А., Сибикеев С.Н., Конькова Э.А.	247
МИКРООРГАНИЗМЫ - АНТАГОНИСТЫ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ ГРИБНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТОМАТОВ	
Бекмухамедова Н.К., Рахмонов Р.А., Мамиев М.С.	249
ГРИБЫ РОДА <i>FUSARIUM</i> НА КЛУБНЯХ КАРТОФЕЛЯ	
Белосохов А.Ф., Ярмеева М.М., Долгов А.М., Миславский С.М., Албантов Г.П., Курчаев М.Л., Кокаева Л.Ю., Чудинова Е.М., Еланский С.Н.	250
ЭФФЕКТИВНЫЕ ГЕНЫ УСТОЙЧИВОСТИ ПРОТИВ ПОПУЛЯЦИЙ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ ПШЕНИЦЫ В МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ	
Белякова С. Ю.	252
ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ НА ДЕРЕВЬЯХ И КУСТАРНИКАХ В ПАРКЕ КУЛЬТУРЫ И ОТДЫХА ИМ. М. ГОРЬКОГО В Г. ТАГАНРОГ (РОСТОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)	
Бондаренко-Борисова И.В., Булгаков Т.С.	253
ОБЛАДАЮЩИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ К ГРИБНЫМ ФИТОПАТОГЕНАМ	
Ботирова И.С., Ёдгорова Ф.Ш., Бекмухамедова Н.К.	255
ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА <i>SASTASEAE</i> JUSS. КОЛЛЕКЦИОННОГО ФОНДА ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ	
Бутко И.И., Головченко Л.А., Космальская Е.С.	255
ВОЗБУДИТЕЛИ МОНИЛИОЗА ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ Г. ТОМСКА	
Чикин Ю. А.	256
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ТИАБЕНДАЗОЛУ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ С РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ПАСЛЕНОВЫЕ	
Цинделиани А.А., Скоков Д.А., Ярмеева М.М., Еланский С.Н., Чудинова Е.М.	258
КЛАССИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ <i>RHIZOCTHORA INFESTANS</i> И ЗАЩИТА ПАСЛЕНОВЫХ ОТ ФИТОФТОРОЗА	
Демидова В.Н., Семенюк И.Н., Мельникова В.А., Уланова Т.И., Кузнецова М.А.	259
ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ПАСМО ЛЬНА <i>SEPTORIA LINICOLA</i>	
И.П. Дудченко, А.Г. Шуковская, Ю.В. Цветкова, Г.Н. Дудченко	261
ГРИБЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАСТЕНИЯМИ КАРТОФЕЛЯ И ТОМАТА В УГАНДЕ: ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, ПАТОГЕННОСТЬ, УСТОЙЧИВОСТЬ К ФУНГИЦИДАМ	
А.С. Еланский, С.М. Миславский, Е.М. Чудинова, С.Н. Еланский	263
АГРЕССИВНОСТЬ ГРИБОВ Р. <i>FUSARIUM</i> , ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ ПАТОКОМПЛЕКСА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ <i>CUCUMISMELOL</i>	
Енгальчева И.А., Козарь Е.Г., Корнилова М.С., Масленникова Е.С.	265
ДЕЙСТВИЕ СОВРЕМЕННЫХ ФУНГИЦИДОВ НА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КОРНЕВОЙ ГНИЛИ ПШЕНИЦЫ	
Гришечкина Л.Д.	

ФГБНУ «Всероссийский институт защиты растений», Санкт-Петербург-Пушкин.....	267
ПАТОГЕННАЯ МИКОБИОТА РАСТЕНИЙ ЛЮЦЕРНЫ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В КОРМОВОДСТВЕ	
Гасанова В. Я.	268
ПРИЗНАКИ ЗАБОЛЕВАНИЯ ФУЗАРИОЗОМ И ВРЕД УРОЖАЮ ЗЕРНА В ПЕРИОД СОЗРЕВАНИЯ ПШЕНИЦЫ (В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН)	
Хайтбаева Н. С. Хасанов Б.А., Бобабеков К.Б.	269
ВИРУЛЕНТНОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ <i>FUSARIUM</i> <i>GRAMINIS PERS. F. SP. TRITICIS</i> НА ПОСЕВАХ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ	
Киселева М.И., Коломиец Т.М.	272
АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДНК ГЕНОВ СУКЦИНАТ-ДЕГИДРОГЕНАЗЫ (SDH) У ВИДОВ КРУПНОСПОРОВЫХ <i>ALTERNARIA</i> - ВОЗБУДИТЕЛЕЙ АЛЬТЕРНАРИОЗА КАРТОФЕЛЯ И ТОМАТА	
Кокаева Л.Ю., Еланский С.Н.	274
ФИТОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ И УСТОЙЧИВОСТЬ СОРТОВ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО К ПАТОГЕНАМ В УСЛОВИЯХ ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ	
Королев К.П., Боме Н.А., Утебаев М.У.	278
ЗАЩИТА КАРТОФЕЛЯ ОТ ФИТОФТОРОЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИСТЕМНЫХ ПРЕПАРАТОВ	
Кузнецова М.А., Демидова В.Н., Рогожин А.Н., Сметанина, Т.И., Уколова А.Ю.	279
К ВОПРОСУ ОБ ИЗУЧЕНИИ ФЕНОМЕНА «ПЛАТЫ» ЗА ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ У ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ	
Насонов А.И., Якуба Г.В.	282
МЕТОДЫ ИММУНОАНАЛИЗА ДЛЯ ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА <i>FUSARIUM</i> В РАЗЛИЧНЫХ СУБСТРАТАХ	
Лебедин Ю.С., Антропова А.Б., Майгурова В.Н., Колоколова М.К.	284
ЭНДОФИТЫ <i>ABIES SIBIRICA</i> LEDEB. И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ БИОКОНТРОЛЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ РОДА <i>CORINESTRIA</i>	
Литовка Ю.А., Павлов И.Н., Тимофеев А.А., Сидорова А.А., Шарыпова Д.Р., Джалолов И.И.	286
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ОБЕСЦВЕЧИВАНИЯ ПОБЕГОВ БОДЯКА ПОЛЕВОГО (<i>CIRSIIUM ARVENSE</i>) И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ	
Лукина Е.Г., Гомжина М.М., Далинова А.А., Дубовик В.Р., Берестецкий А.О.	287
ФИТОСАНИТАРНЫЙ МОНИТОРИНГ ОСНОВНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ШПИНАТА	
Макаренко Е.В.	289
ФИТОПАТОГЕННЫЙ КОМПЛЕКС ГРИБОВ РОДА <i>FUSARIUM</i> НА ОВОЩНЫХ КУЛЬТУРАХ В СРЕДНЕЙ СИБИРИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ БИОКОНТРОЛЯ	
Маколова П.В., Литовка Ю.А., Леоненко А.А., Патрушева М.М., Рыспекова Д.Н., Павлов И.Н.	290
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЫ ЗЛАКОВ НА СТАЦИОНАРНОМ УЧАСТКЕ ЗВЕНИГОРОДСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ МГУ	
Малева Ю.В.	291
ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ПАТОГЕННОМ ГРИБЕ <i>FUSARIUM</i> <i>VRACHYGVIVBOSUM</i> RADWICK НА ПЛОДЕ ДЫНИ В УЗБЕКИСТАНЕ	
Маманазарова К.С.	292
ВРЕДНОСНОСТЬ ЗАБОЛЕВАНИЯ «МУХОСЕД» (<i>SCHIZOTHYRIUM</i> <i>ROMI</i> (<i>MONT. & FR.</i>) <i>ARX</i>) В НАСАЖДЕНИЯХ ЯБЛОНИ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ	
Марченко Л.О., Подгорная М.Е.	293
ОБОСНОВАНИЕ ЭЛЕМЕНТОВ ТЕХНОЛОГИИ КОНТРОЛЯ НЕОФАВРАЕА <i>SPP.</i> В НАСАЖДЕНИЯХ ЯБЛОНИ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ	
Марченко Н.А., Якуба Г.В.	294
ГРИБНЫЕ БОЛЕЗНИ ДЫНИ В НАМАНГАНСКОЙ ОБЛАСТИ, УЗБЕКИСТАН	
Мустафаев И.М., Сафаров Ф.П.	296
ГРИБ <i>NIGROSPORA</i> <i>GORLENKOANA</i> , РАСПРОСТРАНЕННЫЙ НА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУРАХ В РОССИИ	

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР), Санкт-Петербург, Пушкин.....	297
ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ СПОСОБОВ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ НА ПАТОГЕННОСТЬ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СЕПТОРИОЗА <i>P. NODORUM</i> И <i>Z. TRITICI</i>	
Пахолкова Е.В., Сальникова Н.Н.	299
ОПЕРАТИВНЫЙ МОНИТОРИНГ ФУЗАРИОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИЙ ДИСТАНЦИОННОГО ЗОНДИРОВАНИЯ	
Павлов И.Н., Литовка Ю.А., Маколова П.В., Емельянов Д.В., Ботвич И.Ю., Шевырнов А.П., Патрушева М.М., Овчинников А.Г., Кокорин А.Н.....	301
ФИТОСАНИТАРНАЯ ДИАГНОСТИКА ПОСЕВОВ КОРМОВЫХ КУЛЬТУР	
Разгуляева Н.В., Костенко Н.Ю., Благовещенская Е.Ю.	302
КОМБИНИРОВАННЫЕ ФУНГИЦИДЫ ДЛЯ ЗАЩИТЫ СВЕКЛЫ САХАРНОЙ ОТ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ ЛИСТОВОГО АППАРАТА	
Ревкова М.А., Кунгурцева О.В.....	305
ИНФИЦИРОВАНИЕ ЗЕРНА ЯРОВОГО ТРИТИКАЛЕ МИКРООРГАНИЗМАМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СИСТЕМЫ ЗЕМЛЕДЕЛИЯ В УСЛОВИЯХ СЕВЕРНОГО КАЗАХСТАНА	
Рукавицина И.В., Ткаченко О.В.	308
РАЗНООБРАЗИЕ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ ГРИБОВ-ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СЕРОЙ (КРАПЧАТОЙ) СНЕЖНОЙ ПЛЕСЕНИ	
Рязанов Е.А., Мешеров А.Р., Гоголева О.А., Осипова Е.В., Пономарева М.Л., Пономарёв С.Н., Маренина Е.А., Сахобутдинов И.Т., Горшков В.Ю.....	310
ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ ЛИСТОВОГО АППАРАТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ	
Серая Л.Г., Бондарева Е.В., Голиббовская С.А., Калембет И.Н., Ларина Г.Е.,	311
ОЦЕНКА ПРИМЕНИМОСТИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ПАСМО ЛЬНА <i>MYCOSPHAERELLA LINICOLA NAUMOW</i> (<i>SEPTORIA LINICOLA</i> (SPEG.) GARAS.)	
А.Г. Шуковская, Ю.В. Цветкова	313
ОЛИВКОВАЯ ПЛЕСЕНЬ КОЛОСЬЕВ И «ЧЁРНЫЙ ЗАРОДЫШ СЕМЯН» ПШЕНИЦЫ	
А.Г.Шеримбетов, Б.А. Хасанов.....	314
ФОМОИДНЫЕ ГРИБЫ КАРТОФЕЛЯ: РАЗНООБРАЗИЕ, ПАТОГЕННОСТЬ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ФУНГИЦИДАМ	
Скоков Д.А., Цинделиани А.А., Еланский С.Н., Чудинова Е.М.....	316
ТИРОСТРОМОЗ – ОПАСНЕЙШЕЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ ЛИПЫВ УСЛОВИЯХ МОСКВЫ	
Смирнов А. Н., Смирнова О. Г.	318
НОВЫЙ ВИД ГРИБА <i>FUSARIUM COFFEATUM</i> – ПЕРВОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ	
Стахеев А.А., Минаева Л.П., Самохвалова Л.В., Завриев С.К., Киселева М.Г.	321
ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ МИКОБИОТЫ ФИЛЛОПЛАНЫ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ФУНГИЦИДОВ	
Стогниенко О.И., Герр Е.С.	322
О МЕТОДОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОБЛЕМЕ КОМПЛЕКСНОГО ИЗУЧЕНИЯ ТЕЛЕОМОРФ И АНАМОРФ СУМЧАТЫХ ГРИБОВ	
Тарасов К.Л.	324
ИНОКУЛЯЦИЯ СЕМЯН СОЕВЫХ БОБОВ (<i>GLYCINE MAX</i>) АРБУСКУЛЯРНЫМИ МИКОРИЗНЫМИ ГРИБАМИ	
Умаров Б.Р.....	326
БОЛЕЗНИ И ЗАРАЗИХА КАК КРИТИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ ФИТОСАНИТАРНОГО СОСТОЯНИЯ ПОСЕВОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА В АГРОЦЕНОЗАХ РОССИИ	
Якуткин В.И.	
Вейделевский институт подсолнечника (ВИП), Вейделевка, Белгородская область	327
РАЗНООБРАЗИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВИДОВ РОДА <i>COLLETOTRICHUM</i> , ПАРАЗИТИРУЮЩИХ НА КУЛЬТУРНЫХ ПАСЛЕНОВЫХ	
Ярмеева, М.М., Курчаев, М.Л., Кутузова, И.А., Чудинова, Е.М., Еланский, С.Н.	330
О МЕХАНИЗМАХ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ БИОПЕСТИЦИДОВ НА ОСНОВЕ <i>VASCILLUS SUBTILIS</i> В СОЧЕТАНИИ С СИГНАЛЬНЫМИ МОЛЕКУЛАМИ ПРОТИВ <i>RHYTOPIHORA INFESTANS</i> MONT. DE VARY В ИЗМЕНЯЮЩИХСЯ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ	
Ярулина Л.Г., Бурханова Г.Ф., Цветков В.О., Черепанова Е.А., Сорокань А.В., Заикина Е.А.....	331
ПАТОГЕННОСТЬ И ФИТОТОКСИЧНОСТЬ ШТАММОВ <i>BIPOLARIS</i>	

SOROKINIANA (SACC.) SHOEM. НА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУРАХ	
Жемчужина Н.С., Коломиец Т.М., Киселева М.И., Панкратова Л.Ф.....	334
ПРОГНОЗ РАЗВИТИЯ НЕОАРЕАЛОВ ИНВАЗИВНЫХ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ С ПРИМЕНЕНИЕМ СРЕДЫ МАХЕНТ	
Звягинцев В.Б., Пинчук А.Г.....	336
РОЛЬ АФИЛЛОФОРОВЫХ ГРИБОВ В ДЕКОМПОЗИЦИИ ДРЕВЕСИНЫ	
Некляев С.Э., Серая Л.Г., Ларина Г.Е.	337

Глава 8.

Фитопатогенные грибы

doi: 10.14427/cmr.2022.ix.08

ВЫДЕЛЕНИЕ ФИТОПАТОГЕННЫХ И ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ ИЗ САКСАУЛА ЧЕРНОГО (*HALOXYLON APHYLLUM* (MINKW.) ILJIN) И ДВУХ ВИДОВ ТАМАРИКСА (*TAMARIX HISPIDA* WILLD., *TAMARIX RAMOSSISIMA* LEDEB.) ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ПУСТЫНЕ АРАЛКУМ

Адилов Б.Ш., Шеримбетов А.Г., Рузметов Д.Р.

Институт генетики и экспериментальной биологии растений Академии наук Республики Узбекистан, Ташкентская область, Узбекистан

Засоление и засуха – являются самыми важными абиотическими стрессовыми факторами окружающей среды [1]. По оценкам, более 900 миллионов гектаров (более 6%) сельскохозяйственных земель и 30 процентов оросительной воды во всем мире подвержены воздействию соли [2].

В связи с высыханием Аральского моря в Приаралье возник сложный комплекс проблем, имеющих далеко идущие глобальные последствия. На высохшей части моря появились обширные засоленные территории, которые образовали новую пустыню «Аралкум». По последним данным [3], её площадь составляет 5 млн га, из которых около 2,5–3 млн га принадлежит Республике Каракалпакстан.

Изучение микроорганизмов в тканях растений является одной из важных задач в определении приспособляемости высших растений к различным экологическим условиям. Известно, что некоторые виды микроорганизмов участвуют не только в функциональной активности, но также, играют важную роль в ответных реакциях на различные стрессовые экологические факторы. В связи с этим стоит особо отметить образование в тканях растений групп микроорганизмов из паразитов, сапрофитов, и видов других групп, особенно симбиоз из высших и низших форм организмов. Среди симбионтов, достойных внимания, можно выделить эндофитов из ряда микробионтов.

Засоление влияет на рост растений напрямую через токсичность ионов и косвенно за счет увеличения осмотического стресса. Термин «эндофитные грибы» использовался в микробиологических исследованиях для описания грибов, обитающих в здоровых растениях. Ассоциация эндофитных грибов с растениями улучшает рост растений, их устойчивость к стрессам окружающей среды, таким как засуха, засоление, температура, тяжелые металлы и т. д., а также устойчивость к патогенам. Почти все виды растений являются хозяевами одного или нескольких эндофитов. Эндофиты, выделенные из растений, произрастающих в жарком климате и засоленных почвах, имеют высокий потенциал практического применения в сфере повышения стрессоустойчивости и урожайности в условиях высокой температуры и засоления почвы [4].

Целью данного исследования является выделение и идентификация фитопатогенных и эндофитных грибов ассоциированных с галофитными растениями, произрастающими на высохшем дне Аральского моря.

Для анализа были использованы образцы из корней, стеблей трех образцов растений без признаков болезни черного саксаула - *Haloxylon aphyllum* (Minkw.) Iljin, и двух

видов тамарикса - *Tamarix hispida* Willd., *T. ramossisima* Ledeb., которые были собраны во время экспедиции.

Перед стерилизацией образцы корней тщательно промывали проточной водопроводной водой для удаления частиц песка, почвы и другого дегриза. Корни подвергали трехэтапной процедуре поверхностной стерилизации, обрабатывали раствором Твина 80 (200 мкл в 100 мл дистиллированной воды) в течение 10 минут, 70% этанолом в течении 15 минут и дважды 2% раствором гипохлорита натрия в течение 15 минут с последующей промывкой дистиллированной водой.

После этих этапов предварительной обработки корни были асептически нарезаны на фрагменты длиной при 1,5-2 см. Дезинфицированные нарезанные фрагменты растений переносили на чашки Петри диаметром 8 см, содержащие агаризированные среды (КДА, КМА, ГА) и инкубировали при $25 \pm 1^\circ \text{C}$ в камере искусственного климата течение 4 недель.

Все грибы, которые росли изнутри образцов корней, затем переносили на PDA с целью выделения чистых инокультур.

Для длительного хранения коллекции полевых изолятов грибов, полученных в данном исследовании, использовался метод замораживания в глицерине (20%) при -20°C [5]. Конидии и конидиофоры каждого изолята отбирали из культур агара с помощью стерильной иглы и помещали в стерильные 1,5 мл пробирки Эппендорфа, содержащие 1 мл 20% глицерина. Затем эти пробирки хранили в морозильной камере при -20°C .

Для идентификации использовали бинокулярный микроскоп Nover (NLCD-307B) с увеличением 100x-400x. Для качественного анализа, идентификацию осуществляли на 10-12 сутки культивирования, при котором изоляты образовали ярко выраженные микро-конидии в среде КМА.

Морфологическая идентификация выделенных грибов проводилась на основе характеристик макроконидий, филидов, микроконидий, хламидоспор, а также цвета колоний и скорости роста [5, 6, 7].

В результате исследования было выделено 142 изолятов эндофитных грибов. Видовой состав эндофитных грибов был очень разнообразен. Доминирующими видами были 7 видов (относящиеся к 3 семействам и 5 родам): *Alternaria tenuissima* (Kunze) Wiltshire, *Trichoderma viride* Pers., *Ulocladium consortiale* (Thiim) E.G. Simmons, *Acremonium* sp., *Chaetomium* sp., *Stemphylium* sp., *Alternaria* sp.

Таблица 1.

Таблица 1.
Встречаемость эндофитов в исследованных растениях

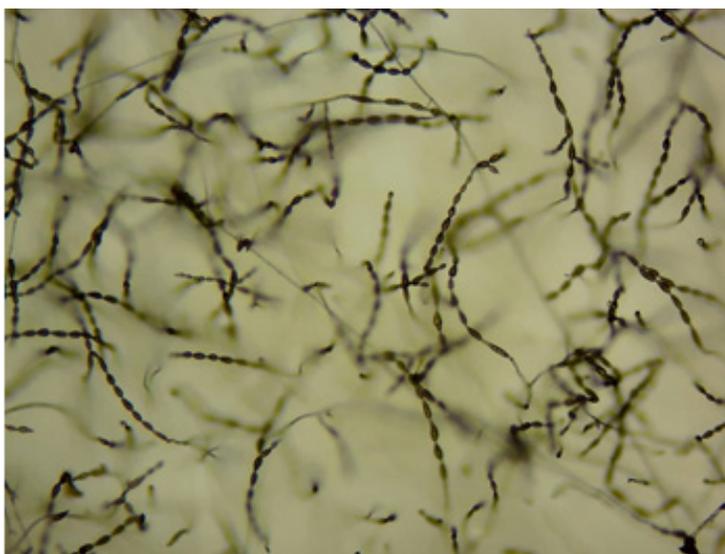
№	Название растения	Всего исследовано (сегментов)	Из них выделено изолятов
1	<i>Haloxyton aphyllum</i>	42	61
2	<i>Tamarix hispida</i>	23	34
3	<i>Tamarix ramossisima</i>	28	47

Ниже приводится описание культурально-морфологических особенностей первых 2 видов выделенных грибов:

Alternaria tenuissima (Kunze) Wiltshire - на картофельном агаре образует воздушный мицелий бурого-черного цвета, субстратный мицелий – черного цвета. Поверхность колонии ровная, края неровные, быстрорастущие. Под микроскопом: Гифы мицелия перегорожены поперечными перегородками, что характерно для высших грибов класса *Dothideomycetes*. Конидии образованы из 4-6 сегментов и имеют апикальный вторичный конидиеносец.

Конидии образованы из 4-6 сегментов в поперечных сегментах и имеют апикальный вторичный конидиеносец. КМА является более бедной по составу средой в которой мы наблюдали появление умеренно обильного спороношения грибов по сравнению со средой КДА в которой было видно формирование густо разросшегося мицелия. Также при микроскопировании было выявлено частичное образование апикальных выростов (1-рис).

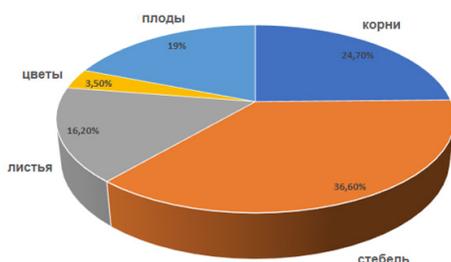
Рис. 1. *Alternaria tenuissima* на среде КМА (увеличение x100)



Trichoderma viride Pers. - на картофельном агаре образует воздушный мицелий серо-зеленого цвета, поверхность колоний неровная, с неровным краем, колонии имеют овалообразную форму, быстрорастущие, субстратный мицелий - серо-зеленого цвета. Под микроскопом: Конидии одноклеточные, шаровидной формы. На концах разветвленных конидиеносцев конидии собраны в головки по 10-20 штук. Хламидоспоры сферической формы.

Анализ распределения эндофитных грибов по органам растений показал, что на разных органах растений эндофиты заселяются неодинаково, например, как показано на диаграмме, из корней выделено - 24,7%, стеблей-36,6%, листьев-16,2%, цветов-3,5%, плодов-19% изолятов. Ткани корневой системы растений являются благоприятной нишей для растительно-эндофитного симбиоза, а также наиболее предрасположенными для симбиоза органами были стебли и листья (рис.2).

Рис. 2. Частота локализации эндофитных грибов по органам исследованных растений.



Грибы из рода *Alternaria* являются патогенами растений и способны поражать растения на всех фазах развития – начиная от семян и заканчивая взрослыми растениями и плодами. По современным данным, в мире охарактеризовано около 280 видов грибов рода *Alternaria*, из них 50 видов вызывают экономически значимые заболевания [8]. Тенденция роста экономического ущерба альтернариозов в сельском хозяйстве наблюдается во всех регионах мира.

Следует также отметить, что некоторые эндофитные грибы, ассоциированные с растениями в естественных экосистемах, помогают растениям преодолевать абиотические стрессовые факторы, такие как засоление почвы, засуха и высокая температура. Фитогормоны синтезируемые эндофитными грибами стимулируют процессы развития растений, такие как прорастание семян, удлинение стебля, элонгация листьев, индукцию цветения, созревания, а также развитие устойчивости к абиотическим факторам.

Изоляты эндофитных и фитопатогенных грибов, выделенные в этом исследовании, в дальнейшем могут быть использованы для более глубокого изучения их биологических свойств, разработки мероприятий по контролю грибковых заболеваний лесонасаждений и выявления новых биологически активных веществ для сельского хозяйства и биотехнологического использования.

ФИЛОГЕНИЯ И РАЗНООБРАЗИЕ ВИДОВ РОДА *CLONOSTACHYS* НА ПАСЛЕНОВЫХ РАСТЕНИЯХ

Албантов Г.П.¹, Еланский С.Н.^{1,2}, Белосохов А.Ф.^{1,2}

¹ Аграрно-технологический институт Российского университета дружбы народов. Москва

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Введение

Clonostachys rosea — почвенный аскомицет, известный своими микопаразитарными и антагонистическими способностями против широкого спектра патогенов растений и нематод [1]. Было высказано предположение, что *C. rosea* может быть использован в качестве агента биоконтроля против патогенных грибов на сельскохозяйственных культурах [2]. Также было отмечено, что применение грибов рода *Clonostachys* на растениях приводит к индукции защитных реакций хозяина [3]. Биологические методы защиты требуют системного подхода с пониманием особенностей популяций агентов контроля. Для эффективного применения таких методов необходимо изучение видового состава и разнообразия, которое до сих пор не было сделано для грибов рода *Clonostachys* в России.

В работе штаммы *Clonostachys sp.* были выделены с картофеля и томата в разных регионах, исследовались на предмет видовой принадлежности, патогенности по отношению к клубням картофеля, устойчивости к фунгицидам, применяемым для защиты клубней и антагонистической и микотрофной активности в отношении некоторых опасных патогенов картофеля.

Материалы и методы

Штаммы были собраны с пораженных вегетативных и генеративных органов картофеля и томата в разных регионах России в период с 2017 по 2021 год. Один штамм – с корней пораженного саженца яблони.

Для оценки видовой принадлежности использовали определение по морфологии с использованием специфиче-

Список литературы

1. Chen L., Ren F., Zhong H., Jiang W. (2009) Identification and expression analysis of genes in response to high-salinity and drought stresses in *Brassica napus*. *Acta Biochim Biophys Sin* 42:154–164.
2. Камалов Ш., Ашурметов О.А., Бахиев А.Б. Некоторые итоги фитомелиорации солончаков южной части осушенного дна Аральского моря и Приаралья // Вестник ККО АН РУз. – Нукус, 2001. – № 6. – С.3-6.
3. Камалов Ш. Фитомелиорация солончаков Аралкума // Проблемы освоения пустынь. – Ашхабад, 2005. – № 2. – С. 21-22.
4. Singh L.P., Gill S.S., Tuteja N. 2011. Unraveling the role of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance. *Plant Signal Behav* 6: 175-191.
5. Ellis M.B. (1976): *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 507 pp.
6. Leslie J.F., Summerell B.A. (2006) *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Professional, Ames, Iowa, USA.
7. Simmons E. G. "Alternaria: an Identification Manual," CBS Fungal Biodiversity Center, Utrrecht, 2007.
8. Simmons E.G. Alternaria taxonomy: current status, viewpoint, challenge. Alternaria. Biology, plant diseases and metabolites. Eds. J. Chefkowski, A. Visconti. Amsterdam, Elsevier, 1992, p. 1-36.

ской литературы [4], и по молекулярным признакам. ДНК штаммов выделяли по протоколу, описанному в [5]. Видовую принадлежность штаммов определяли молекулярным методом и по морфологии. Были исследованы видоспецифичные участки ДНК ITS (праймеры ITS1 и ITS4), участок гена большой субъединицы рибосомальной РНК (LSU) (LROR и LR5), участок гена *tef1* (EF-1 и EF-2) [6,7,8].

Для оценки патогенности штаммов, выделенных с разных хозяев, были взяты небольшие клубни картофеля (диаметром около 40 мм). Ломтики клубней картофеля заражали кусочком агара с мицелием гриба без укола. В контроле на ломтик клубня помещали стерильный агаровый блок. Инокулированные ломтики клубней помещали во влажные камеры и держали в термостате при температуре 15°C. Учет диаметров повреждения проводили через 31 день инкубации.

Тестирование на устойчивость к фунгицидам проводили в концентрациях по действующему веществу 0,1, 1, 10, 100 мг/л на средах PDA или MEA. В качестве контроля использовали среды без фунгицида. В качестве изучаемых фунгицидов были выбраны тиabendазол (препарат Имикар, КС) и дифеноконазол (Скор). В препарат Имикар, кроме тиabendазола, входит инсектицид имидаклоприд. Предварительными экспериментами было показано, что имидаклоприд не оказывает влияния на рост штаммов на питательной среде. Агаровый блок с мицелием изучаемого штамма помещали в центр чашки Петри со средой, через 7-14 дней (в тот момент, когда диаметр колонии на контроле составлял 60-80% от диаметра чашки) производили

замеры диаметров колоний, на основании которых рассчитывали показатель ЕС50.

Для оценки использования штаммов *Clonostachys* в качестве агентов биоконтроля оценивали их конкурентную и микотрофную активность методом попарного срачивания на питательной среде с культурами патогенов картофеля: *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum coccodes* и *Sclerotinia sclerotiorum*. Оценивали зону ингибирования роста между штаммами, либо микотрофную активность (зона распространения

мицелия *Clonostachys* по колонии тестируемого фитопатогена).

Результаты и обсуждение

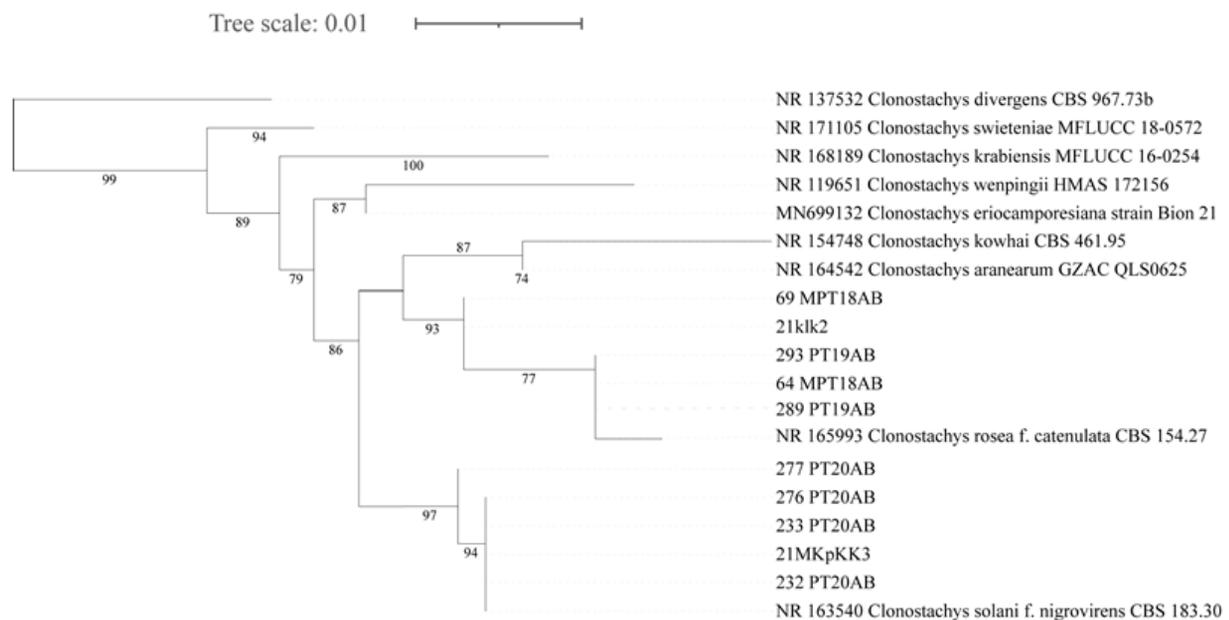
Всего было изучено 17 штаммов *Clonostachys spp.*, видовая принадлежность которых была определена как *Clonostachys rosea* и *C. solani* (Schroers et. al 1999) (Табл. 1). Штаммы имели небольшие отличия между собой по структуре видоспецифичных регионов; внутривидовое разнообразие требует дальнейшего изучения.

Таблица 1. Видовая принадлежность исследованных штаммов *Clonostachys sp.*

Штамм	Видовая принадлежность	Место выделения (область)	Источник выделения
121 КРТ18АВ	<i>Clonostachys rosea</i>	Клубень картофеля	Калужская обл.
289 РТ19АВ	<i>C. rosea</i>	Клубень картофеля	Краснодарский край
293 РТ19АВ	<i>C. rosea</i>	Клубень картофеля	Краснодарский край
294 РТ19АВ	<i>C. rosea</i>	Клубень картофеля	Краснодарский край
64 МРТ18АВ	<i>C. rosea</i>	Клубень картофеля	МО*
69 МРТ18АВ	<i>C. rosea</i>	Клубень картофеля	МО
93 МРТ18АВ	<i>C. rosea</i>	Клубень картофеля	МО
23 MPL17АВ	<i>C. rosea</i>	Лист картофеля	МО, Рогачево
18КРПТ 1	<i>C. rosea</i>	Плод томата	Краснодарский край
21КЛК 2	<i>C. rosea</i>	Саженьцы яблони	Кабардино-Балкария
276 РТ20АВ	<i>Clonostachys solani</i>	Клубень картофеля	МО, Коренево
277 РТ20АВ	<i>C. solani</i>	Клубень картофеля	МО, Коренево
21МКрКК 3	<i>C. solani</i>	Клубень картофеля	МО, Коренево
232 РТ20АВ	<i>C. solani</i>	Клубень картофеля	МО, Рогачево
233 РТ20АВ	<i>C. solani</i>	Клубень картофеля	МО, Рогачево
340 РТ20АВ	<i>C. solani</i>	Клубень картофеля	Тульская обл.
345 РТ20АВ	<i>C. solani</i>	Клубень картофеля	Тульская обл.

* - МО – Московская обл

Рис. 1. Филогенетическое дерево, полученное анализом последовательностей участка ITS.



Оценка патогенности к картофелю была проведена на 17 штаммах: 15 с листа картофеля, 1 с яблони и 1 с томата. Диаметры поражения на 31 день инкубации составляли 1-5 мм. Это показывает очень слабую патогенность гриба даже в отношении незащищенной ткани клубня, или ее отсутствие. Зоны лизиса диаметром 1-2 мм были видны даже на контроле, что, по-видимому, вызвано жизнедеятельностью неспецифической залетной микрофитоты.

Анализ восприимчивости к фунгицидам показал, что все штаммы были чувствительны к дифеноконазолу (EC50 <0,4 мг/л) (табл. 3). К тиabendазолу устойчивость не была такой однозначной, показатель EC50 варьировал от 0,4 до 7,5 мг/л.

Анализ антагонистической и микотрофной активности штаммов проводили на штаммах фитопатогенных грибов *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum coccodes* и *Sclerotinia sclerotiorum*. Активность отмечена у всех изучаемых штаммов. Попарное сращивание с изолятами *S. sclerotiorum* и *R. solani* показали антагонистическую активность, выражающуюся в ингибировании роста колоний и образовании зоны, свободной от роста. Некоторые штаммы *Clonostachys* после срастания колоний росли поверх *Colletotrichum* и *Rhizoctonia*. Штаммы различались по антагонистической и микотрофной активности. Наиболее активными показали себя штаммы 23 MPL17AB, 64 MPT18AB, 93 MPT18AB, 289 PT19AB, 293 PT19AB, 294 PT19AB, 18КРПТ1, 21КЛК2, 21МКРКК3.

Выводы

Штаммы, выделенные из клубней картофеля, принадлежали видам *Clonostachys rosea* и *C. solani*; выделенные из листа картофеля, плода томата и корня саженца яблони относились к *C. rosea*. Исследованные штаммы показали очень низкую патогенность (или ее отсутствие) в отношении искусственно пораненных клубней картофеля. Препараты Имикар и Скор показали высокую эффективность в отношении всех исследованных штаммов.

В результате работы были отобраны штаммы, обладающие высокой антагонистической и/или микотрофной активностью в отношении фитопатогенных грибов и непатогенные в отношении картофеля. Считаем их перспективными для использования в качестве агентов биоконтроля, что, однако, требует дальнейших исследований.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (грант 075-15-2021-1396).

Список литературы

1. Sutton, John C., De Wei Li, Gang Peng, Hai Yu, Pinggao Zhang, and R. M. Valdebenito-Sanhueza. 1997. 'Gliocladium Roseum: A Versatile Adversary of Botrytis

2. Cinerea in Crops'. Plant Disease 81 (4): 316–28. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.4.316>.
2. Rodriguez, M.A., G. Cabrera, F.C. Gozzo, M.N. Eberlin, and A. Godeas. 2011. 'Clonostachys Rosea BAF3874 as a Sclerotinia Sclerotiorum Antagonist: Mechanisms Involved and Potential as a Biocontrol Agent'. Journal of Applied Microbiology 110 (5): 1177–86. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.04970.x>.
3. Roberti, Roberta, AnnaRita Veronesi, Augusto Cesari, Annunziata Cascone, Iris Di Bernardino, Laura Bertini, and Carla Caruso. 2008. 'Induction of PR Proteins and Resistance by the Biocontrol Agent Clonostachys Rosea in Wheat Plants Infected with Fusarium Culmorum'. Plant Science 175 (3): 339–47. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.05.003>.
4. Schroers, Hans-Josef Josef. 2001. 'A Monograph of Bionectria (Ascomycota, Hypocreales, Bionectriaceae) and Its Clonostachys Anamorphs'. Studies in Mycology, no. 46: 215.
5. Kutuzova, I. A., L. Yu Kokaeva, M. A. Pobendinskaya, Yu A. Krutyakov, E. S. Skolotneva, E. M. Chudinova, and S. N. Elansky. 2017. 'Resistance of Helminthosporium Solani Strains to Selected Fungicides Applied for Tuber Treatment'. Journal of Plant Pathology 99 (3): 635–42. <https://doi.org/10.4454/jpp.v99i3.3950>.
6. White, TJ, T Bruns, S Lee, and J. Taylor. 1990. 'Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal Rna Genes for Phylogenetics'. In PCR Protocols, 315–22. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1>.
7. Vilgalys, R., and M. Hester. 1990. 'Rapid Genetic Identification and Mapping of Enzymatically Amplified Ribosomal DNA from Several Cryptococcus Species'. Journal of Bacteriology 172 (8): 4238–46. <https://doi.org/10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990>.
8. O'Donnell, Kerry, H. Corby Kistler, Elizabeth Cigelnik, and Randy C Ploetz. 1998. 'Multiple Evolutionary Origins of the Fungus Causing Panama Disease of Banana: Concordant Evidence from Nuclear and Mitochondrial Gene Genealogies'. Proceedings of the National Academy of Sciences 95 (5): 2044–49. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.2044>.
9. Schroers, H. J., Samuels, G. J., Seifert, K. A., & Gams, W. (1999). Classification of the mycoparasite Gliocladium roseum in Clonostachys as C. rosea, its relationship to Bionectria ochroleuca, and notes on other Gliocladium-like fungi. Mycologia, 91(2), 365-385

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ БОЛЕЗНЕЙ НА БОБАХ КОРМОВЫХ (*VICIA FABA* L.) В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Ашмарина Л.Ф.

Сибирский Федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Новосибирск

Бобовые культуры, к которым относятся кормовые бобы (*Vicia faba* L.) – одна из древнейших культур, возделываемая в настоящее время в 58 странах мира и занимающая третье место среди зернобобовых (Sing et al., 2013). Бобы обладают рядом ценных качеств: производят ценный растительный белок, фиксируют свободный азот (до 300 кг N га), являются одной из наиболее востребованных культур в условиях глобального потепления и изменения климата из-за своей уникальной адаптивности к различным почвенно - климатическим условиям (Bond, 1976). На урожайность этой культуры влияют ряд био - и абиотических факторов, среди которых болезни играют значительную роль. Величина потерь в производстве бобовых, вызванных болезнями, оценивается в среднем в 15%, хотя иногда они намного выше и могут достигать 70–80% (Horoszkiewicz-Janka et al., 2013). Они снижают продуктивность и качество продукции и вызываются более 100 возбудителями болезней (Hebblethwaite, 1983). Наиболее распространенными грибковыми, бактериальными и вирусными заболеваниями в разных странах являются: шоколадная пятнистость (*Botrytis fabae* и *B. cinerea*), ржавчина (*Uromyces viciae fabae*), черная корневая гниль (*Thielaviopsis basicola*), гниль стебля (*Sclerotinia trifoliorum*, *S. sclerotiorum*), корневые гнили, ложная мучнистая роса (*Pernospora viciae*), гибель всходов (*Pythium* spp.), пятнистость листьев и стручков (*Ascochyta fabae*), различные гнили (*Fusarium* spp.), бурая пятнистость, а также вирусные, бактериальные заболевания и многие другие (Mohammed, 2013). К наиболее вредоносным заболеваниям относятся корневые гнили (*Fusarium* spp.), которые широко распространены на бобовых культурах во многих странах (Kagen et al., 2007) и могут поражать до 93,8% растений, значительно снижать урожайность (Erper et al., 2008), а также листостеблевые болезни (которые приводят к поражению листьев, снижению фотосинтетической активности (Ashour et al., 1998; Dabala et al., 2017). Шоколадная пятнистость - еще одна из

распространенных и вредоносных болезней, вызываемая *B. fabae* (Sing et al., 2013). Среди различных ограничений, болезни всегда были основным лимитирующим фактором при выращивании бобов (Hebblethwaite, 1983).

В условиях континентального климата Западной Сибири в посевах кормовых бобов также распространен и вредоносен целый комплекс болезней: корневые гнили (виды *Fusarium* L., *Alternaria* L.), пятнистости листьев (виды рода *Fusarium*, *Alternaria*), мучнистая роса (*Erysiphe communis* (Wallr.) Grev. f. *fabae* Yacz.), шоколадная пятнистость (*Botrytis fabae* Sardina) и др. (Ashmarina et al., 2008, 2009, 2017). Сильное проявление болезней и высокое их распространение, приводит к значительной потере продуктивности.

В течение 2019-2021гг. было проведено изучение особенностей развития и распространенности болезней на бобах кормовых в лесостепи Западной Сибири. Наиболее вредоносным заболеванием относится корневая гниль, вызываемая целым комплексом возбудителей. На растениях наблюдалось потемнение и отмирание боковых корней, язвы, перетяжки на основном стебле и снижение числа ризобиальных клубеньков (рис.1). Интенсивность проявления болезни колебалась по годам и зависела как от наличия семенной, так и почвенной инфекции. Индекс развития болезни достигал в отдельные годы 45,9 %, а распространенность – 96,0%. Наиболее интенсивно болезнь проявлялась в засушливых условиях вегетационного периода.

Микологический анализ пораженных подземных органов позволил выделить комплекс возбудителей болезни. Из подземных органов растений бобов (n=50) выделялись преимущественно виды рода *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, что подтверждает их участие в этиологии заболевания (табл. 1).

Таблица 1 – Зараженность подземных органов бобов возбудителями корневой гнили, 2019-2020 гг.

Вариант	Количество колоний в чашке Петри (n = 5, M ± m)					
	<i>Fusarium</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Aspergillum</i>	Другие
2019 год	1,6 ± 0,4	1,6 ± 0,4	1,0 ± 0,55	0,6 ± 0,24	0,8 ± 0,2	2,0 ± 0,71
2020 год	8,0 ± 0,55	2,4 ± 0,81*	1,0 ± 0,32	0	0	0,4 ± 0,24

Рис. 1. Корневая гниль подземных органов бобов. Стрелки указывают на пораженные участки



Зараженность растений видами рода *Fusarium* (свыше 80,0%) была в среднем в 3-6 раз выше, чем темноцветными гиомицетами. Значительное инфицирование растений видами этого рода приводило к поражению сосудисто-проводящей системы и к дальнейшему проявлению на растениях заболевания в форме фузариоза (увядания).

Наблюдения за развитием листостеблевых болезней в травостое кормовых бобов показали, что интенсивность и динамика их развития была в течение вегетации различной (рис.2-3).

Первыми на нижнем ярусе растений появились пятнистости листьев, развитие которых достигало 97,3 %, а распространенность – до 100%. К фазе молочной спелости отмечено проявление мучнистой росы (*E. communis*) и шоколадной пятнистости (*B. fabae*),

Выявлено, что мучнистая роса и шоколадная пятнистость значительно поражали верхний ярус растений (распространенность достигала 100 %), а на нижнем ярусе эти болезни практически отсутствовали. Установлено, что фузариоз (*Fusarium* spp.) в умеренной степени равномерно проявлялся в целом по растению, индекс развития болезни составлял от 18,0 до 22,1 %, а распространенность болезни от 40,0 до 55,0 %.

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить в посевах кормовых бобов в условиях лесостепи Западной Сибири целый комплекс заболеваний разной этиологии. Это свидетельствует о необходимости разработки спектра защитных мероприятий, с целью снижения их вредоносности.

Рис. 3. Растения кормовых бобов, пораженные: А – мучнистой росой; Б – фузариозом; В – шоколадной пятнистостью



А

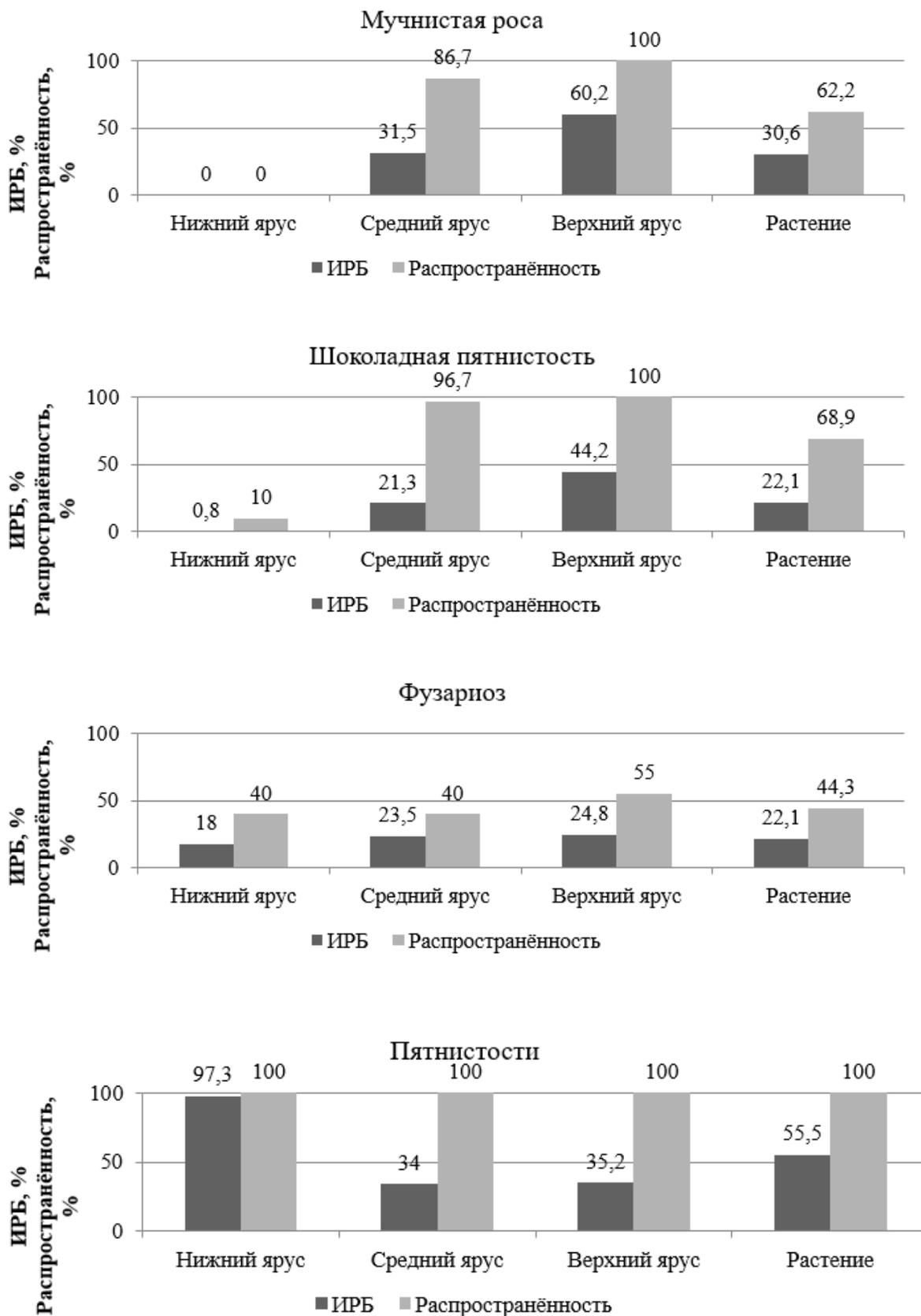


Б



В

Рис. 2 Динамика поражённости бобов листостеблевыми инфекциями в фазу молочной спелости



Список литературы

1. Sing A.K., Bharati R., Pedapati A. (2013). An assessment of faba bean (*Vicia faba* L.) current status and future prospect. African Journal of Agricultural Research Vol. 8(50), pp. 6634-6641
2. Bond DA. (1976). Field bean, *Vicia faba*. In: Simmonds, N. W. (eds.), Evolution of Crop Plants. Longman, London, UK, pp. 179-182.
3. Hebblethwaite P.D. (1983). The Faba Bean. Butterworths, London, U.K., 573 pp.

4. Mohammed A. (2013). An overview of distribution, biology and the management of common bean Anthracnose. J Plant Pathol Microb 4:193 doi:10.4172/2157-7471.1000193.
5. Karen A. Cichy, Sieglinde S. Snapp, William W. Kirk. (2007). Fusarium root rot incidence and root system architecture in grafted common bean lines Plant Soil 300:233–244 DOI 10.1007/s11104-007-9408-0.
6. Erper İ., Karaca G., Özkoç İ. (2008). Root rot disease incidence and severity on some legume species grown in Samsun and the fungi isolated from roots and soils. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 47: 501-506. 10.1080/03235400600833779.
7. Ashour, WA., Sirry, AR., Hegazy, MF. (1966). Studies on the fungus *Botrytis fabae* Sard. causing chocolate spot to broad bean (*Vicia faba*) Ann. Agric. Sci. 11: 143–158.
8. Dabala C., Negera A., Abebe Z., Tola. (2017). Assessment of the occurrence and prevalence of Faba bean gall (*Olpidium viciae*) in Western Highlands of Oromiya, Ethiopia. Journal of Natural Sciences Research. ISSN 2224-3186 (Paper) ISSN 2225-0921 (Online) Vol.7, No.5:63-67.
9. Ашмарина Л.Ф. Фузариозы кормовых бобов в лесостепи Западной Сибири/ Л.Ф. Ашмарина, И.М. Горобей, Н.В. Давыдова // Сиб. вестн. с. - х. науки. -2008. - №7. - С. 42 - 46.
10. Ashmarina L.F., Gorobey I.M., Konyaeva N.M., Agarkova Z.V. 2010. Atlas of Diseases of Fodder Crops (in Russian). Siberian Research Institute of Fodder Crops SFSCA RAS, Novosibirsk, Russia, 173 pp.
11. Ashmarina L.F., Konyaeva N.M., Agarkova Z.V., Lyubimets Y.V. 2017. Harmful Organisms of Fodder Crops in Western Siberia and Measures to Combat them (in Russian). Siberian Research Institute of Fodder Crops SFSCA RAS, Novosibirsk, Russia, 64 pp.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПЕРМАНГАНАТА КАЛИЯ НА ЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ МУЧНИСТОЙ РОСОЙ

Аветисян Г.А., Аветисян Т.В.

Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, г. Москва

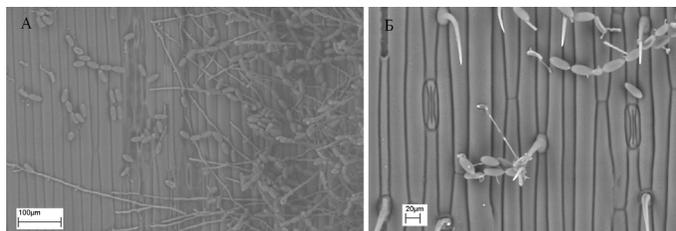
Исследования, связанные с вопросом применения различных химических веществ, являются важным вопросом защиты растений от болезней и внешних факторов (Ворошилов, 1960). Влияние перманганата калия на защитные свойства растений к заболеваниям представляет интерес в связи с тем, что микроэлемент марганец, входящий в состав перманганата калия, играет важную роль в питании растений, повышая активность ферментов и гормонов, вместе с тем, участвуя в биохимических процессах растительной клетки (Burnell, 1988; Huber and Wilhelm, 1988; Gong et al., 2010; Heine et al, 2011). Известно, что марганец активизирует систему антиоксидантной защиты организма и помогает вырабатывать устойчивость против инфекций (Colquhoun, 1940; Srivastava and Dube, 2011).

В связи с этим была предпринята попытка изучить влияние перманганата калия на устойчивость растений мягкой пшеницы к возбудителю мучнистой росы.

Объектом исследования служили растения мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L., зараженные *Blumeria graminis* (DC.) Speer. Для изучения влияния перманганата калия на развитие патогена проводили подкормку проростков пшеницы 0,2%-ным водным раствором $KMnO_4$. Контролем служили инфицированные растения, не подкормленные исследуемым раствором.

На поверхности пораженных листьев пшеницы конидии мучнисторосяного гриба были представлены в виде цепочек по 10-20 штук. Поверхностная плотность колоний в контрольном варианте была равна $22,15 \pm 1,5$, в опытном варианте $13,2 \pm 0,8$. Изучение интенсивности прорастания конидий возбудителя мучнистой росы на листьях пшеницы показало, что спороношение конидий в варианте с 0,2%-ным раствором $KMnO_4$ было ниже, чем в контрольном варианте.

Рисунок 1. Развитие *B. graminis tritici* на поверхности листьев пшеницы при искусственном заражении (СЭМ, нативный материал при $-30^{\circ}C$): А – контроль; Б – 0,2% $KMnO_4$



Было обнаружено, что в контрольном варианте без использования раствора KMnO₄ колонии *B. graminis tritici* отличались обильным спороношением, и наблюдалось образование гало, а в опытном варианте рост и размножение конидий происходили медленнее и гало не были заметны (Рисунок 1). В нашем исследовании в контрольном варианте опыта отмечалось преобладание конидиальных цепочек в колониях мучнисторосяного патогена по сравнению с опытным вариантом. При формировании колоний мучнистой росы на поверхности листьев пшеницы, можно отметить два момента. Во-первых, в опытном варианте конидии в колониях не прорастают и не дают вторичного спороношения, тогда как в контрольном варианте наблюдались мощные колонии с обильным вторичным спороношением. Во-вторых, зрелые конидии в опытном варианте обнаруживались в значительно меньшем количестве, чем в контроле.

На основании полученных результатов можно отметить, что использование 0,2%-ного водного раствора KMnO₄ приводило к снижению образования аппрессориев и числа видимых колоний возбудителя мучнистой росы на листьях пшеницы. Таким образом, применение раствора перманганата калия способствует повышению защитных свойств растений пшеницы к мучнисторосяному патогену. Однако, данное предположение нуждается в дальнейших исследованиях.

Список литературы

1. Ворошилов В.Н. Ритм развития у растений. М., 1960. 136 с.
2. Burnell J.N. The biochemistry of manganese in plants. In: Graham RD, Hannam RJ, Uren NC. Manganese in Soils and Plants. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 1988. P. 125-137.
3. Huber D.M, Wilhelm N.S. The role of manganese in resistance to plant diseases. In: Graham RD, Hannam RJ, Uren NC. Manganese in Soils and Plants. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 1988. P. 155-173.
4. Gong X., Wang Y., Liu C., Wang S., Zhao X., Zhou M., Li N., Lu Y., Hong F. Effects of manganese deficiency on spectral characteristics and oxygen evolution in maize chloroplasts // Biological trace element research. 2010. V. 136. № 3. P. 372-382.
5. Heine G., Max J.F., Führs H., Moran-Puente D.W., Heintz D., Horst W.J. Effect of manganese on the resistance of tomato to *Pseudocercospora fuligena* // Journal of plant nutrition and soil science. 2011. V. 174. № 5. P. 827-836.
6. Colquhoun T.T. Effect of manganese on powdery mildew of Wheat // Journal of the Australian Institute of Agricultural Science. 1940. V. 6. № 1. P. 54.
7. Srivastava S., Dubey R.S. Manganese-excess induces oxidative stress, lowers the pool of antioxidants and elevates activities of key antioxidative enzymes in rice seedlings // Plant Growth Regulation. 2011. V. 64. № 1. P. 1-16.

ПРОБЛЕМА СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЫ В ПОВОЛЖЬЕ

Баранова О.А.¹, Сибикеев С.Н.², Конькова Э.А.²

¹«Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» ФГБНУ ВИЗР, Санкт-Петербург, Пушкин

² «Федеральный Аграрный Научный Центр Юго-Востока» ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока», Саратов

Стеблевая ржавчина (возбудитель *Puccinia graminis f. sp. tritici* Eriks. & Henn) - опасное заболевание пшеницы. При эпифитотийном развитии болезни потери урожая могут достигать от 50 - 80% и более (Jin et al., 2008). В последние годы наблюдается усиление вредоносности этого патогена как на территории стран Африки и Америки, так и стран Евразийского континента, в том числе и в России. С одной стороны, сохраняется угроза проникновения на территорию нашей страны высоковредоносной расы гриба - Ug99 (ТТКСК), поражающей сорта с геном Sr31, распространенной в странах Африки и Ближнего Востока, и мигрирующей в направлении Средней и Юго-Восточной Азии (данные СИММУТ). С другой стороны, в мире появились новые агрессивные расы гриба, отличные от Ug99, такие как раса ТКТТЕ, обнаруженная в странах Ближнего Востока и Европы (Lewis et al., 2018), раса ТККТР, вирулентная к линиям с генами Sr24, SrTmp и Sr1RSAmigo (Olivera et al., 2017) и раса ТТТТЕ, поразившая несколько тысяч гектаров твердой пшеницы в Сицилии в 2016 году. Эта эпифитотия была крупнейшей вспышкой стеблевой ржавчины в Европе за последние десятилетия. Раса ТТТТЕ вирулентна к линиям с генами Sr9e, Sr13 и авирулентна к Sr31, Sr24 и Sr25 (Bhattacharya, 2017). На территории Российской Федерации эпифитотийное развитие болезни отмечалось в 2015 - 2020 годах в Западной Сибири, Центральном регионе Европейской части РФ и Нижнем Поволжье. В 2016 году в Западной Сибири выявлена раса ТТТТЕ, отличающаяся от сицилий-

ской расы (по данным Global Rust Reference Center). В том же 2016 году на посевах яровой мягкой пшеницы в период колошения на всей территории Республики Татарстан отмечалось сильнейшее распространение стеблевой ржавчины (Василова и др., 2017). В Саратовской области, особенно в Правобережной её части, том же году также была эпифитотия стеблевой ржавчины. Развитие болезни достигало 80% и потери урожая составили 50%. Инокулом возбудителя стеблевой ржавчины, помимо местной популяции, заносится на территорию Поволжья с Западной Европы, Северного Кавказа, Средней Азии, Северной Африки через Ближний восток (Иран) и Каспийское море, что сильно повышает вероятность заноса Ug99 и других агрессивных рас патогена. Если анализ расового состава популяций возбудителя стеблевой ржавчины других зернопроизводящих регионов (Краснодарский Край и Западная Сибирь) активно ведется (Волкова и др., 2021; Skolotneva et al, 2020), то последние крупномасштабные исследования Поволжских популяций *P. graminis* проводились в девяностых годах прошлого века (Лекомцева, 1996; Волкова, 1978; Лекомцева, Волкова, 1994). На тот момент стеблевая ржавчина не представляла экономической значимости и проявлялась в виде отдельных очагов, состоящих из нескольких пораженных растений (Лекомцева, Волкова, 1994). Однако уже тогда было показано, что поволжская популяция *P. graminis* отличается агрессивностью и, при благоприятных условиях, будет угрожать посевам пшеницы в Поволжье (Волко-

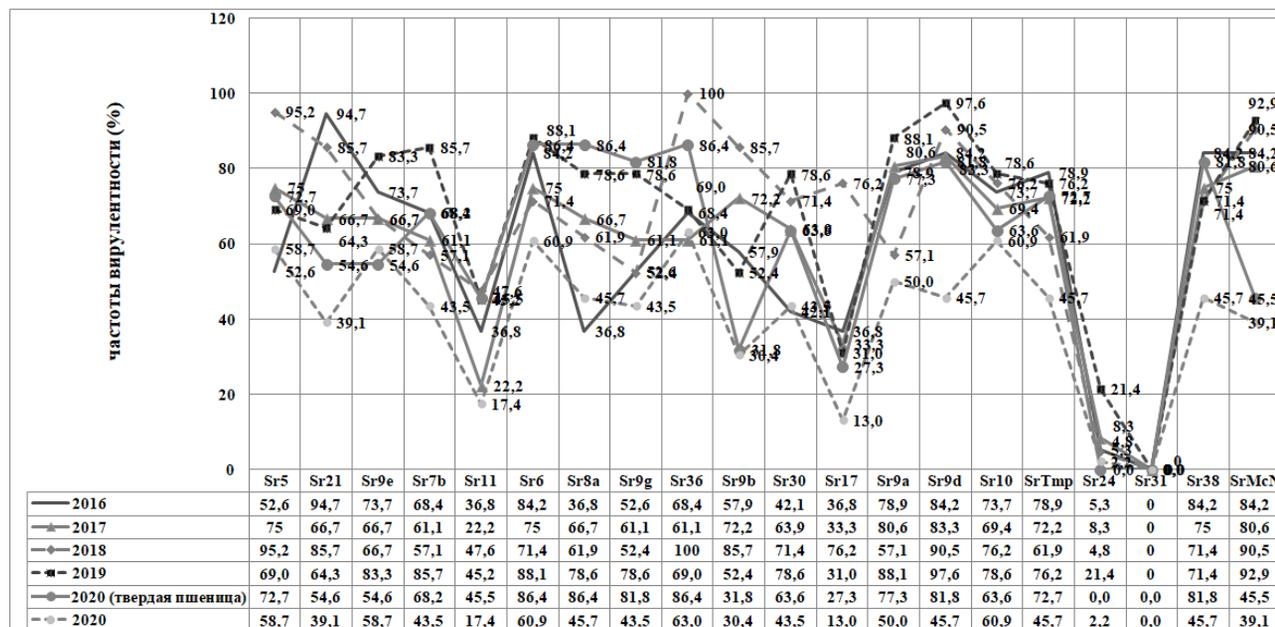
ва, 1978). Однако с 2016 года эпифитотийная ситуация по стеблевой ржавчине в регионе резко изменилась в худшую сторону. Целью нашей работы был анализ саратовской популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* 2016–2020 гг. по признаку вирулентности и расовому составу. В рамках проекта РФФИ №18-016-00170а были проанализированы популяции возбудителя стеблевой ржавчины, собранные в Саратовской области в 2016 – 2020 гг и определены Sr-гены устойчивости пшеницы, эффективные к саратовской популяции гриба и расовый состав патогена.

Анализ признака вирулентности проводился по принятой методике (Jin et al., 2007) с использованием набора 20 линий-дифференциаторов (North American differential set: Sr5, Sr21, Sr9e, Sr7b, Sr11, Sr6, Sr8a, Sr9g, Sr36, Sr9b, Sr30, Sr17, Sr9a, Sr9b, Sr10, SrTmp, Sr24, Sr31, Sr38, SrMcN) и 26 почти изогенных Sr линий: Sr8b, Sr12, Sr13, Sr15, Sr20, Sr22, Sr25, Sr26, Sr27, Sr28, Sr29, Sr32, Sr33, Sr35, Sr37, Sr39, Sr40, Sr44, Sr26+Sr9g, Sr31+Sr36, Sr31+Sr24, Sr24+Sr36, Sr17+Sr13, Sr7a+Sr12, Sr7b+Sr18 и SrWld. Также были использованы сорта Аврора (Sr31) и Хакасская (восприимчивый контроль). Реакцию проростков линий-дифференциаторов на иноку-

ляцию суспензией спор возбудителя стеблевой ржавчины (концентрация 1мг/1 мл) учитывали на 10-12-ые сутки после заражения по стандартной шкале (Stakman et al.,1962). Были выделены монопустульные изоляты из саратовской популяции *P. graminis* разных годов (2016 г. - 19 изолятов; 2017г.- 41 изолят; 2018 г. - 21 изолят; 2019 - 42 изолята; 2020 г - 46 изолятов, из популяции, собранной с мягкой пшеницы, а также 22 изолята гриба с твердой пшеницы).

В результате было показано, что к популяциям *P. graminis* 2016 – 2020гг были эффективны гены Sr13, Sr26, Sr31, Sr35 и сочетания генов Sr24+31, Sr36+31 и Sr26+9g. Ген Sr31 пока сохранил эффективность против местных популяций *P. graminis*. Таким образом, заноса расы Ug99 и ее биотипов на территорию Саратовской области не произошло, и другие расы патогена, вирулентные к этому гену пока не найдены. Однако, показана потеря эффективности как гена от пырея промежуточного Sr6Ag1 так и гена Sr25 (Баранова и др. 2021). На рисунке 1 представлены результаты анализа вирулентности саратовской популяции *P. graminis* к Sr-линиям по годам.

Рис. 1 - Динамика частот вирулентности саратовской популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* к Sr - линиям 2016 – 2020гг



В популяциях *P. graminis* 2016 – 2020 годов изоляты с генами вирулентности pp5, 6, 9e, 9a, 10 и p36 встречались с частотой более 50%, изоляты, вирулентные к Sr31 не найдены. Показано высокое фенотипическое разнообразие популяций *P. graminis*. Выделены агрессивные изоляты гриба с большим количеством генов вирулентности (от 14 до 19). В популяции 2016 года таких изолятов было 42,2%; 2017 года – 49%; 2018г- 60%; 2019г – 53%; в популяции 2020 года, собранной с мягкой пшеницы, - 17% и в популяции 2020 года, собранной с твердой пшеницы, – 45%. В популяциях *P. graminis* 2017 - 2020 годов впервые для Поволжья выделены изоляты с фенотипами TTTTF, TKTF, TKKT, TKRTF и TTTTR.

Наши исследования саратовской популяции *P. graminis* показали крайнюю агрессивность современной популяции патогена. Таким образом, стало ясно, что необходим анализ вирулентности и определение современного

расового состава популяций возбудителя стеблевой ржавчины из разных регионов Среднего и Нижнего Поволжья. Необходимо охватить всю территорию для четкого понимания фитопатологической ситуации в регионе. В рамках этих задач за счет гранта РФ № 22-26-00172, <https://rscf.ru/project/22-26-00172/> летом 2022 года была проведена экспедиция по Поволжью (Нижегородская область, Республика Татарстан, Ульяновская область, Самарская область, Саратовская область, Волгоградская область). Получен инфекционный материал из Ульяновской и Саратовской областей, а также Республики Татарстан для дальнейших генетико-популяционных исследований гриба. Определение эффективных генов устойчивости к популяциям *P. graminis* позволит целенаправленно использовать эти данные в направленной селекции на иммунитет сортов твердой и мягкой пшеницы.

Список литературы

1. Bhattacharya S. Deadly new wheat disease threatens Europe's crops. *Nature*. 2017;542:145-146.
2. Jin, Y., Singh, R. P., Ward, R. W., Wanyera, R., et al. Characterization of seedling infection types and adult plant infection responses of monogenic Sr gene lines to race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *Tritici*. *Plant Disease*. 2007;91:1096-1099.
3. Jin, Y., Szabo, L. J., Pretorius, Z. A., Singh, R. P., et al. Detection of virulence to resistance gene Sr24 within race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Plant Disease*. 2008;92:923-926.
4. Lewis C. M., Persoons A., Bebbler D. P., et al. Potential for re-emergence of wheat stem rust in the United Kingdom. *Communications Biology*. 2018;1:13. doi:10.1038/s42003-018-0013-y.
5. Olivera P., Newcomb M., Flath K., et al. Characterization of *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* isolates derived from an unusual wheat stem rust outbreak in Germany in 2013. *British Society for Plant Pathology*. 2017;66:1258-1266. doi:10.1111/ppa.12674.
6. Skolotneva ES, Kosman E, Patpour M, Kelbin VN, Morgounov AI, Shamanin VP and Salina EA Virulence Phenotypes of Siberian Wheat Stem Rust Population in 2017-2018. *Front. Agron*. 2020;2:6. doi:10.3389/fagro.2020.00006
7. Stakman E.C., Stewart D.M., Loegering W.Q. Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service. 1962. E-617 (rev).
8. Баранова О.А., Сибикеев С.Н., Дружин А.Е., Созина И.Д. Потеря эффективности генов устойчивости к стеблевой ржавчине Sr25 и Sr6Agi на территории нижнего Поволжья. *Вестник защиты растений*. 2021;104.2:105-112 doi:10.31993/2308-6459-2021-104-2-14994
9. Василова НЗ, Асхадуллин ДФ, Асхадуллин ДФ Эпифитотия стеблевой ржавчины на яровой пшенице в Татарстане. *Защита и карантин растений*. 2017;2:27-28.
10. Волкова В. Т. Состав популяций возбудителя стеблевой ржавчины зерновых культур *Puccinia graminis* Pers. в среднем и нижнем Поволжье. Дис. канд. биол. наук. - М., 1978. - 187с.
11. Волкова Г.В., Гладкова Е.В., Мирошниченко О.О. Вирулентность северокавказской популяции *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici*. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2021;2:40-45.
12. Лекомцева С.Н. Внутривидовая структура *Puccinia graminis* pers. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук. Москва. 1996. 38 с.
13. Лекомцева С.Н., Волкова В.Т. Динамика расового состава популяций стеблевой ржавчины пшеницы и роль некоторых факторов в изменении их структуры. *Успехи современной генетики*. 1994;19:96-118.

МИКРООРГАНИЗМЫ - АНТАГОНИСТЫ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ ГРИБНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТОМАТОВ

¹Бекмухамедова Н.К., ²Рахмонов Р.А., ²Мамиев М.С.

¹Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан
²Ташкентский Государственный аграрный университет

Известно, что микроорганизмы являются эффективными продуцентами новых вторичных метаболитов, которые демонстрируют диапазон биологической активности, включая производство антибактериальных, противогрибковых и внеклеточных ферментов.

Томат – самая распространенная овощная культура не только в нашей стране, но и во всем мире. Его выращивают во всех странах мира, а в странах с теплым климатом он занимает ведущее место среди овощных культур.

Томат – основная культура Узбекистана. Он здесь возделывается на площади более 60 тыс. га, а валовые сборы его плодов составляют около 1,6 млн. т. Около 70% урожая используется на переработку, 15-20% - на внутреннем рынке и 10-15% экспортируется в другие страны. Свежие плоды и продукты их переработки имеют большой спрос на внешнем рынке, и поэтому производство томата в республике постоянно растет.

С появлением стойких сортов и гибридов томата, овощеводы реже сталкиваются с грибковыми болезнями на томатах. Ежегодная урожайность томата нестабильна по причине ущерба, наносимого вертициллезом, фузариозом, альтернариозом, вирусом табачной мозаики, а также неинфекционной вершинной гнили плодов (ВГП). Химическая борьба с патогенами трудоемка, требует больших денежных затрат, не всегда достаточно эффективна и во многих случаях наносит вред здоровью человека и окружающей среде. Поэтому, в последнее время используются биопрепа-

раты на основе микроорганизмов – экологически безопасных для человечество.

Таким образом, целью нашего исследования являлось выделение из ризосферы томата местных штаммов микроорганизмов, обладающих антагонистической способности к возбудителям болезни томатов.

Из ризосферы томатов Ташкентского вилоята, Кибрайского района выделено 28 изолятов микроорганизмов. Из них в чистую культуру было выделено 15 штаммов актиномицетов и 13 штаммов микроскопических грибов. Были изучены морфологические свойства и определена родовая принадлежность этих выделенных культур проведены исследования по определению антагонистической способности микроорганизмов к фитопатогенам. Тест культурами являлись коллекционные штаммы микромицетов - фитопатогены – возбудители болезни у томатов: *Verticillium dahliae*, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *F.solany*, *F.moniliforme*, *F.vasinfectum*.

Результаты показали, что из апробированных 15 культур актиномицетов рода *Streptomyces* 8 штамма угнетали рост *Verticillium dahliae* до 30 мм в диаметре. Ингибирование *Fusarium oxysporum*, *F.solany*, *F.moniliforme* *F.vasinfectum* достигало до 35 мм. Зона подавления гриба *Alternaria alternata* актиномицетами – 22 мм.

Из апробированных 13 штаммов микроскопических грибов *Acrimonium sp.1* и *Cladospora sp.3* ингибировали рост *Verticillium dahliae* до 20-24 мм. Установлено, что из изученных штаммов микроскопических грибов *Stachybotrys sp.13*

обладает высокую активность ко всем фитопатогенам (22–34 мм).

Таким образом, микроорганизмы – активные антагонисты обладают свойствами, весьма желательными для ми-

кроорганизмов, применяемых в разработке биологических средств контроля против фитопатогенов томатов, который является одна из наиболее широко распространенных овощных культур в мире и Узбекистана.

ГРИБЫ РОДА *FUSARIUM* НА КЛУБНЯХ КАРТОФЕЛЯ

Белосохов А.Ф.^{1,2}, Ярмеева М.М.¹, Долгов А.М.¹, Миславский С.М.², Албантов Г.П.², Курчаев М.Л.², Кокаева Л.Ю.¹, Чудинова Е.М.², Еланский С.Н.^{1,2}.

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

²Российский университет дружбы народов. Москва

Введение

Сухая гниль клубней – одно из важнейших заболеваний клубней картофеля. В подавляющем большинстве случаев она вызывается грибами из рода *Fusarium*. Фузариумы – группа, крайне сложная для идентификации, в связи с чем систематизация данных о распространенности видов *Fusarium* на клубнях картофеля является затруднительной. Морфологических критериев, как правило, недостаточно даже для определения фузариумов до уровня комплекса видов. Для точного определения видового состава необходимо привлекать молекулярные методы, самый распространенный из которых – анализ видоспецифичных последовательностей участков ДНК. При этом разрешающая способность разных регионов ДНК сильно отличается. Целью настоящей работы было изучение видового состава грибов рода *Fusarium*, выделенных как с внешне здоровых клубней, так и с клубней с симптомами сухой гнили, по морфологическим и молекулярным признакам.

Материалы и методы.

Клубни были собраны на полях в специализированных коммерческих и личных подсобных хозяйствах и в хранилищах в период с 2014 по 2021 год в различных регионах. Каждая проба представляла собой 5–10 клубней, включая клубни с симптомами поражения и внешне здоровые, без симптомов поражения. Клубни тщательно отмывали и поверхностно стерилизовали, после чего кусочки клубней вырезались стерильным ножом и помещались во влажные камеры на 2–4 сут. при комнатной температуре, либо сразу на среду. Для выделения чистых культур использовались чашки Петри со средой PSA с добавлением антибиотика (Гентамицин; 20 мг/л). Идентификация по морфологическим признакам производилось на средах PDA, PCA и SNA после инкубации в течение 7–10 суток на свету при 25°C. Получение ДНК чистых культур грибов производилось, как описано в [1]. В качестве специфических участков ДНК для молекулярной идентификации изолятов использовали гены *b-tub* (праймеры *Btu-F-F01* и *Btu-F-R01*, [2]) и *tef1* (*EF-1* и *EF-2*, [3]). Идентификация проводилась путем секвенирования амплифицированных участков по Сэнгеру и сравнения полученных последовательностей с последовательностями типовых штаммов в базе данных GeneBank.

Определение патогенности. Использовали чистые гидропонные миниклубни картофеля без повреждений. Клубни погружали в 2% раствор гипохлорита на 5 мин. для поверхностной стерилизации, ополаскивали стерильной водой и высушивались на воздухе. Клубни инфицировали уколом иглы, в полость которого помещалось 100 мкл суспензии конидий для имитации травматической инокуляции. Контрольные клубни укалывали стерильной иглой и инокулировались стерильной водой. Для тестирования первичной патогенности на неповрежденную поверхность

клубня помещали каплю суспензии. На контрольные клубни помещалась капля стерильной воды. Оба теста с инфицированными клубнями инкубировали во влажной камере в трех повторностях в темноте при температурах 12 °C и 25–30 °C. Результаты теста регистрировались на 40 сутки.

Тестирование устойчивости к тиабендазолу. Тестирование штаммов на устойчивость к фунгицидам проводили на агаризованной питательной среде. Использовали препарат Имикар, КС. Этот препарат содержит также инсектицид имидаклоприд, но проведенные нами ранее эксперименты показали, что он не влияет на рост грибов. Для тестирования использовали чашки с концентрацией фунгицида в среде 1, 10, 100 ppm по действующему веществу, в трех повторностях для каждого штамма. Радиальный прирост колоний гриба на каждой концентрации измеряли после инкубации в течение 7 суток при 25°C (либо в момент, когда диаметр колонии на бесфунгицидном контроле составлял около 70% диаметра чашки). Полученные данные использовали для расчета показателя EC50 – концентрации фунгицида, в 2 раза замедляющей радиальный прирост колонии относительно контроля.

Результаты и обсуждение

Разнообразие видов *Fusarium* на клубнях картофеля. Всего было изолировано и изучено 73 штамма *Fusarium spp.*, выделенных из клубней картофеля из Австралии, Вьетнама, Московской (МО), Калужской, Костромской, Астраханской, Брянской, и Тульской, областей, Краснодарского и Камчатского края и Республики Адыгея и Республики Крым. Были выявлены штаммы следующих видов:

- *Fusarium redolens* Wollenweber
- *Fusarium incarnatum-equiseti* SC:
F. incarnatum (Desm.) Sacc.
F. equiseti (Corda) Sacc.
F. flagelliforme J.W. Xia, L. Lombard, Sand.-Den., X.G. Zhang & Crous
- *Fusarium clavum* J.W. Xia, L. Lombard, Sand.-Den., X.G. Zhang & Crous;
- *Fusarium oxysporum* SC:
F. oxysporum Schldtl.,
F. curvatum L. Lombard & Crous,
F. nirenbergiae L. Lombard & Crous;
- *Fusarium lateritium* SC:
Fusarium lateritium Nees
- *Fusarium nisikadoi* SC:
F. commune K. Skovgaard, O'Donnell & Nirenberg,
F. inflexum R. Schneid.;
- *Fusarium sambucinum* SC:
F. sambucinum Fuckel,
F. sporotrichioides Sherbakoff;
- *Fusarium solani* SC:

F. merckxianum (Quaedvl. & Sand.-Den.) T. Aoki, Geiser & O'Donnell
F. solani (Mart.) Sacc.
F. vanettenii O'Donnell, Geiser, Kasson & T. Aoki;
 • *Fusarium tritricinum* SC:
F. avenaceum (Fr.) Sacc.,
F. tricinctum (Corda) Sacc.,
 • *Fusarium fujikuroi* SC:
F. nygamai L.W. Burgess & Trimboli,
F. proliferatum (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg.

В популяции *Fusarium* на клубнях наибольшее количество идентифицированных видов принадлежало к комплексу *F. oxysporum* sc, к которому относится 47% всех изолятов. Затем в порядке уменьшения по частоте изолятов следуют комплексы *F. tritricinum* sc, *F. sambucinum* sc, *F. solani* sc, *F. incarnatum-equiseti* sc. Наименьшую представленность в популяции занимают редкие находки *F. fujikuroi* sc, *F. nisdakoi* sc и *F. laterinum* sc, вместе с единственным изолятом *Fusarium redolens* вне каких-либо комплексов. Подобное распределение с некоторыми допущениями сходится

с данными, полученными *Emil Stefańczyk* с соавторами [4] по разнообразию видов *Fusarium* на клубнях в Польше, и данными, полученными *Youssef Gherbawy* с соавторами на клубнях в Египте [5]. Несколько видов *Fusarium*, идентифицированных в текущей работе, являются новыми или редко упоминаемыми и плохо изученными на клубнях картофеля: *F. commune*, *F. curvatum*, *F. flagelliforme*, *F. incarnatum*, *F. proliferatum*, *F. nirenbergiae*, *F. vanettenii*.

Патогенность и устойчивость к фунгицидам. В исследованиях агрессивности грибов рода *Fusarium* в Европе указывается, что наибольшая агрессивность штаммов наблюдается у видов внутри *Fusarium sambucinum* sc, в то время как наименьшая агрессивность у европейских штаммов *F. oxysporum* sc и *F. incarnatum-equiseti* sc [6,7]. В настоящей работе была проведена проверка данных положений на полученных изолятах комплексов видов *Fusarium sambucinum* sc и *F. incarnatum-equiseti* sc, а также параллельное изучение их устойчивости к тиабендазолу – фунгициду, применяющемуся в настоящее время для контроля популяций патогенов рода *Fusarium* на картофеле во время хранения (табл. 1).

Таблица 1. Результаты экспериментов на агрессивность штаммов рода *Fusarium* и их устойчивость к тиабендазолу.

Комплекс	Вид	Изолят	Время с момента заражения (сут)	Диам. пораж. при травматической инокуляции, мм	Диам. пораж. при поверхностной инокуляции, мм	Тиабендазол ЕС ₅₀ , мкг/мл
FIESC	<i>F. clavus</i>	F20AKTF2	17	3,3	0	4,50
	<i>F. flagelliforme</i>	F14MOTL2	40	4,0	0	4,25
	<i>F. equiseti</i>	31MPL17	39	2,0	33,0	2,64
		25MPL17	39	3,0	22,5	3,00
<i>F. incarnatum</i>	386AKP20	39	3,5	50,0	15,00	
FSAMSC	<i>F. sambucinum</i>	312PT14	53	7,5	0	2,50
		336KosPT17	40	5,7	0	16,28
	<i>F. sporotrichioides</i>	324PT16	53	3,0	0	3,31
		109MPT18	53	6,0	0	31,13
		14MPT17	40	2,7	0	46,00
		18KrSbL17	47	4,5	0	31,80
		21KShPep1.2	39	6,5	3,0	40,10
FTSC	<i>F. avenaceum</i>	310 KosPT17	40	13,0	-	5,38
FOSC	<i>F. commune</i>	75 MPT18AB	40	2,0	-	5,35
		20 MPT17AB	40	1,3	-	5,02
FSSC	<i>F. merckxiana</i>	F20AKPS3	39	2,5	50,0	4,25

В ходе экспериментов было обнаружено, что грибы комплекса FIESC *F. clavus*, *F. flagelliforme*, *F. merkxiana*, *F. equiseti*, *F. incarnatum* имеют в целом качественно большую агрессивность, включая в себя штаммы, способные к первичному инфицированию клубней, при котором развивают выраженную инфекцию (кроме F20AKTF2, 386AKP20, 17MPL31), что показывают результаты поверхностного нанесения суспензии конидий на неповрежденную кожуру клубня. При этом средний диаметр поражений на 40 сутки составил 3,1 мм при заражении уколом, что ниже, чем тот же показатель для грибов из комплекса FIESC (5,12 мм, на 39% больше). Грибы из комплекса FSAMSC *F. sambucinum* (14PT312, 16PT324, 17KosPT336) и *F. sporotrichioides* (18MPT109, 17MPT14, 17KrSbL18) не могли заражать неповрежденный картофель, и лишь штамм 21KShPep1.2 показал незначительную способность инициировать инфекцию.

Устойчивость штаммов к тиабендазолу имела выраженное разделение: для изолятов, принадлежащих к *F. incarnatum-equiseti* sc, EC50cp=3,34 мкг/мл. Изоляты *F. sambucinum* sc 14PT312 и 16PT324 имели схожие показатели EC50cp (2,9 мкг/мл), в то время как 17KrSbL18 имел в 5,6 раз большую устойчивость (EC50cp=16,28 мкг/мл). Все исследованные штаммы *F. sporotrichioides* имели самый высокий показатель устойчивости среди всех исследованных грибов: EC50cp от 31,1 до 46 мкг/мл.

Работа была выполнена при частичной поддержке Российского Фонда Фундаментальных исследований (грант 20-016-00139).

Список литературы

1. Kutuzova I.A., Kokaeva L.Y., Pobendinskaya M.A., Krutyakov Y.A., Skolotneva E.S., Chudinova E.M., Elansky S.N. Resistance of Helminthosporium solani strains to

selected fungicides applied for tuber treatment // Journal of Plant Pathology. 2017. № 3(99). С. 635–642. DOI:10.4454/jpp.v99i3.3950.

- Watanabe M., Yonezawa T., Lee K.I., Kumagai S., Sugita-Konishi Y., Goto K., Hara-Kudo Y., Yonezawa T., Goto K. Molecular phylogeny of the higher and lower taxonomy of the Fusarium genus and differences in the evolutionary histories of multiple genes // BMC Evolutionary Biology. 2011. № 1(11). С. 322. DOI:10.1186/1471-2148-11-322.
- O'Donnell K., Kistler H.C., Cigelnik E., Ploetz R.C. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1998. № 5(95). С. 2044–2049. DOI:10.1073/pnas.95.5.2044.
- Stefańczyk E., Sobkowiak S., Brylińska M., Śliwka J. Diversity of Fusarium spp. associated with dry rot of potato tubers in Poland // European Journal of Plant Pathology. 2016. № 4(145). С. 871–884. DOI:10.1007/s10658-016-0875-0.
- Gherbawy Y.A., Hussein M.A., El-Dawy E.G.A., Hassany N.A., Alamri S.A. Identification of Fusarium spp. Associated with Potato Tubers in Upper Egypt by Morphological and Molecular Characters // Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology. 2019. № 3(2). С. 1–14. DOI:10.9734/ajbgbmb/2019/v2i330062.
- Azil N., Stefańczyk E., Sobkowiak S., Chihat S., Boureghda H., Śliwka J. Identification and pathogenicity of Fusarium spp. associated with tuber dry rot and wilt of potato in Algeria // European Journal of Plant Pathology. 2021. № 3(159). С. 495–509. DOI:10.1007/s10658-020-02177-5.
- Laraba I., McCormick S.P., Vaughan M.M., Geiser D.M., O'Donnell K. Phylogenetic diversity, trichothecene potential, and pathogenicity within Fusarium sambucinum species complex // PLOS ONE. 2021. № 1(16). С. 1–30. DOI:10.1371/journal.pone.0245037.

ЭФФЕКТИВНЫЕ ГЕНЫ УСТОЙЧИВОСТИ ПРОТИВ ПОПУЛЯЦИЙ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ ПШЕНИЦЫ В МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Белякова С. Ю.

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии (ВНИИФ), Большие Вяземы, Московская обл.

Пшеница является основной продовольственной культурой, как в мире, так и в России. Одной из многочисленных вредоносных грибных болезней пшеницы в настоящее время по-прежнему является бурая ржавчина. Возбудителем бурой (листовой) ржавчины пшеницы является облигатный паразит *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. Систематическое положение: Класс *Basidiomycetes*, порядок *Uredinales*, семейство *Pucciniaceae*, род *Puccinia*. Цикл развития этого патогена на пшенице включает образование урединостадии и телиостадии. Возбудитель поражает листья и листовые влагалища, на которых образуются бурые округлые уредины с урединоспорами, в конце вегетации на листьях, образуются телиопустулы. В России различают две формы популяций бурой ржавчины: европейская и сибирская. Европейская популяция формирует эцидиальное спороношение на василиснике (*Thalictrum*), сибирская - на лешице (*Isopyrum fumaroides*). На Дальнем Востоке промежуточным хозяином возбудителя бурой ржавчины пшеницы может служить ломонос (*Clematis manchurica*), относящийся к семейству Ranunculaceae. Источники инфекции: всходы падалицы, злаковые сорняки, промежуточные хозяева и всходы озимых, на которых зимует мицелий. Пере-

заражение происходит с помощью урединоспор, распространяемых ветром.

Бурая ржавчина является одним из наиболее распространенных и вредоносных заболеваний пшеницы во всем мире. Интенсивное развитие болезни в разных климатических зонах обусловлено пластичностью и высокой репродуктивной и миграционной способностью патогена.

Цель исследований - поиск новых источников генов длительной устойчивости пшеницы к бурой (листовой) ржавчине.

В 2021 году была изучена вирулентность московской популяции бурой ржавчины, собранной на территории Одинцовского района Московской области в виде инфицированных листьев пшеницы сортов Московская 39 и Дарья. Образцы были дифференцированы на монопустульные изоляты, которые были размножены в дальнейшем на сорте Хакасская в лаборатории искусственного климата ВНИИФ, в контролируемых условиях, оптимальных для развития растений и патогена: при относительной среднесуточной температуре воздуха +20 оС, относительной влажности воздуха 60 % - днем и 70 % - ночью, освещенности 10-15 тыс. люкс, фотопериоде - 16 часов.

В результате изучения 12 монопустульных изолятов бурой ржавчины выявлены 28 генов вирулентности. Из них 21 ген: 1, 2с, 3а, 3bg, 3ка, 10, 11, 14а, 14в, 16, 17, 18, 20, 21, 27+31, 30, 33, 39, 40, 46 и В были обнаружены во всех изолятах с различной частотой встречаемости; ген 2а и 44-

семи изолятах, гены 25 и 26 - в восьми, ген 2в-в семи, ген 15 в девяти и ген 44 в пяти изолятах. Ни в одном из проверенных изолятов гриба гены вирулентности: 9, 19, 23, 24, 28, 29, 66, 38, 45, 47, 51, 53 не были выявлены.

Таблица 1. Степень эффективности генов устойчивости

Степень эффективности	Гены устойчивости
Абсолютно эффективные (0% встречаемости)	9, 19, 23, 24, 28, 29, 66, 38, 45, 47, 51, 53
Эффективные (1-20% встречаемости)	-
Средне эффективные (21-50% встречаемости)	2а, 32, 44,
Слабо эффективные (51-90% встречаемости)	2б, 15, 25, 26
Абсолютно неэффективные (91-100% встречаемости)	1, 2с, 3а, 3bg, 3ка, 10, 11, 14а, 14в, 16, 17, 18, 20, 21, 27+31, 30, 33, 39, 40, 46, В

Таким образом, гены устойчивости Lr 9, 19, 23, 24, 28, 29, 66, 38, 45, 47, 51, 53 являются абсолютно эффективными к московской популяции бурой ржавчины. Эти гены могут быть рекомендованы селекционерам в качестве доноров

устойчивости для создания ржавчиноустойчивых сортов пшеницы.

Ключевые слова: бурая ржавчина пшеницы, *Russinia recondata* f. sp. *tritici*, патоген, популяция, изолят, ген, вирулентность, устойчивость.

ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ НА ДЕРЕВЬЯХ И КУСТАРНИКАХ В ПАРКЕ КУЛЬТУРЫ И ОТДЫХА ИМ. М. ГОРЬКОГО В Г. ТАГАНРОГ (РОСТОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Бондаренко-Борисова И.В.¹, Булгаков Т.С.²

¹ГБУ «Донецкий ботанический сад», Донецк, Донецкая Народная Республика

²ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук», Сочи

Парк культуры и отдыха (ПКиО) им. М. Горького в г. Таганрог Ростовской области является одним из старейших парков на юге России, ведя свою историю с 1806 г. Располагаясь в восточной части центра Таганрога, на сегодняшний день он является излюбленным местом отдыха горожан, оставаясь одним из самых зеленых мест Таганрога, несмотря на сократившуюся территорию, в наши дни ограниченную ул. Петровской, ул. Социалистической, пер. Большим Садовым, ул. Канатной и Малым Садовым переулком. Общее число видов высаженных здесь деревьев и кустарников в годы максимального расцвета парка в 1960–70-е гг. превышало сотню видов, а за всю историю парка испытания здесь прошли более 300 видов культивируемых растений [1]. По итогам нашего обследования в настоящее время общее видовое разнообразие древесных растений (включая кустарники) составляет около 90 видов из 30 семейств, включая различные лиственные и некоторые хвойные (Cupressaceae и Pinaceae), а также такой уникальный реликтовый вид – гинкго двлопастное (*Ginkgo biloba* L.) [1].

Состояние деревьев и кустарников во многом зависит от патогенных организмов, к числу которых относятся и фитопатогенные грибы. До настоящего времени не было каких-либо сведений о фитопатогенных грибах ПКиО им. М. Горького, но с учетом богатой истории и разнообразия присутствующих здесь древесных растений такие исследования представляются важными. В связи с чем в 2022 г. было проведено фитопатологическое и микологическое

обследование насаждений парка со сбором коллекции плодовых тел и пораженных частей растений для дальнейшего изучения.

По итогам проведенного обследования к настоящему времени можно утверждать, что в парке присутствует типичный для юга России набор фитопатогенных грибов, представленных преимущественно фитопатогенными микромицетами и дереворазрушающими макромицетами. Наиболее многочисленной группой среди обнаруженных фитопатогенных грибов являются микромицеты, среди которых можно выделить две основные группы: 1) развивающиеся на листьях (филлотрофные) виды и вызывающие различные пятнистости листьев, паршу, ржавчину и мучнистую росу, и 2) развивающиеся на ветвях и вызывающие различные некрозно-раковые заболевания.

Среди патогенов листьев особое значение имеют мучнисторосые грибы (*Erysiphaceae*), как наиболее широко представленные в парке и заметно снижающие декоративность растений патогены. К наиболее массовым и вредоносным относятся следующие виды мучнисторосых грибов: *Erysiphe alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam. – на *Quercus robur* L.; *E. beberidis* DC. – на *Berberis vulgaris* L.; *E. syringae* Schwein. u *E. syringae-japonicae* (U. Braun) U. Braun & S. Takam. на *Ligustrum vulgare* L. u *Syringa vulgaris* L., *Sawadaea bicronis* (Wallr.) Homma на *Acer campestre* L. u *A. negundo* L. u *S. tulasnei* (Fuckel) Homma на *Acer platanoides* u *A. tataricum* L. Отдельно отметим обнаружение в парке ряда чужеродных

инвазивных видов, сравнительно недавно (уже в XXI веке) проникших в Европу (включая европейскую часть России) из Северной Америки и Восточной Азии, и уже известных из ближайших к Таганрогу крупных городов: Ростова-на-Дону [2] и Донецка [3]. Примерами таких видов являются возбудители мучнистой росы катальпы (*Erysiphe elevata* (Burrill) U. Braun & S. Takam.), конского каштана (*E. flexuosa* (Peck) U. Braun & S. Takam.), вяза (*E. kenjiana* (Homma) U. Braun & S. Takam.) и ясеней (*E. salmonii* (Syd. & P. Syd.) U. Braun & S. Takam. Первые два вида вызывали весьма интенсивное поражение своих растений-хозяев (катальпы и конских каштанов), со степенью развития болезни более 50%. Примечательно обнаружение еще одного инвазивного вида – *Erysiphe symphoricarpi* (Howe) U. Braun & S. Takam. – возбудителя мучнистой росы снежноягодника (*Symphoricarpos albus* (L.) S.F. Blake, распространившегося в Европе с 2000-х гг., и уже известного из Беларуси и Украины [4]. Это вторая зафиксированная находка данного фитопатогена в Ростовской области и в России – первая была сделана в 2021 году в г. Ростове-на-Дону, в насаждениях на границе Ботанического сада Южного Федерального университета [2]. Среди прочих патогенов отметим возбудителей парши – в особенности парши яблони *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter и белого тополя – *Venturia tremulae* Aderh. var. *populi-albae* M. Morelet, развивавшихся наиболее интенсивно. Ржавчинные грибы на древесных растениях представлены в ПККиО им. М. Горького лишь тремя видами: *Melampsora laricis-tremulae* Kleb. на *Populus alba* L., *Puccinia recondita* Roberge ex Desm. на *Clematis viticella* L. и *Phragmidium mucronatum* (Pers.) Schltdl. на видах *Rosa*.

Среди патогенов, вызывающих некрозно-раковые заболевания, приводящие к отмиранию ветвей, следует особо отметить виды рода *Thyrostroma* – в частности, *Th. celtidis* Senwanna, Wanas., Bulgakov, Phookamsak & K.D. Hyde на *Celtis australis* L., *Th. mori* (Nomura) Höhn. на *Morus alba* L., *Th. styphnolobii* Senwanna, Wanas., Bulgakov, Phookamsak & K.D. Hyde на *Styphnolobium japonicum* (L.) Schott, *T. tiliae* Senwanna, Wanas., Bulgakov, Phookamsak & K.D. Hyde на *Tilia cordata* Mill. и *Thyrostroma ulmicola* Senwanna, Wanas., Bulgakov, Phookamsak & K.D. Hyde на *Ulmus pumila* L. Развитие этих малоизученных патогенов приводит к массовому отмиранию побегов и изреживанию кроны у пораженных деревьев [5].

На территории ПККиО им. М. Горького имеется значительное количество очень старых деревьев (что характерно далеко не для всех парков Ростовской области). Это предопределяет и наличие макромицетов-возбудителей стволовых и комлевых гнилей (преимущественно афиллофороидных грибов), несмотря на тщательное проведение уходовых мероприятий: в парке регулярно ведется санитарная обрезка, убирается и практически отсутствует сухостой и валеж, а большая часть старых пней выкорчевана. С наибольшей частотой из возбудителей гнили древесины в парке встречались *Fomes fomentarius* (L.) Fr. и *Phellinus igniarius* (L.) Quél. – на *Populus alba* L. и *P. × canadensis* Moench; *Cerioporus squamosus* (Huds.) Quél. – на *Acer negundo* L., *A. platanoides* L., *Aesculus hippocastanum* L.; *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill и *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer – на *Fraxinus excelsior* L., *F. pennsylvanica* Marshall, *Robinia pseudoacacia* L. и видах *Populus*, а также такие раневые паразиты как *Chondrostereum purpureum* (Pers.) Pouzar, *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst., *Schizophyllum commune* Fr., *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers., *Trametes versicolor* (L.) Lloyd – на различных видах деревьев. С высокой частотой отмечался трутовик

плоский *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat., вызывавший комлевые гнили у видов *Fraxinus*, *Populus* и *Quercus*. В целом такой видовой состав возбудителей гнилей древесины весьма типичен для региона [6, 7].

Вызывающие гнили древесины макромицеты не были отмечены на кустарниках, за исключением *Schizophyllum commune* Fr., который способен заселять тонкие ветви. Не обнаружены они и на хвойных растениях – елях (*Picea pungens* Engelm.), соснах (*Pinus nigra* Arnold и *P. sylvestris* L.), старых туях (*Thuja occidentalis* L.), плоскочеточниках (*Platyclusus orientalis* (L.) Franco) и можжевельниках (*Juniperus sabina* L., *J. scopulorum* Sarg., *J. virginiana* L.), что можно объяснить и уходовыми работами, и неблагоприятным для таких грибов засушливым климатом. Практически не отмечены на хвойных и микромицеты; нами были выявлены лишь единичные случаи развития *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. на ветвях ели колючей (*Picea pungens* Engelm.).

Ряд деревьев и кустарников показали себя устойчивыми к фитопатогенным грибам: *Cotinus coggygia* Scop., *Buddleia davidii* Franch., *Deutzia scabra* DC., *Forsythia × intermedia* Zabel, *Ginkgo biloba* L., *Gymnocladus dioica* (L.) K. Koch, *Philadelphus coronarius* L., *Physocarpus opulifolius* (L.) Maxim., *Rhus typhina* L., *Spiraea × vanhouttei* (Briot) Carrière, *Tamarix ramosissima* Ledeb. – на них грибные фитопатогены пока не обнаружены.

Данное исследование и публикация выполнены в рамках Государственного задания ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук», тема № FGRW-2022-0006.

Список литературы

1. Киричек М.С. Два века таганрогского парка. Таганрог: Лукоморье, 2006. 128 с.
2. Булгаков Т.С. Облигатно-паразитические фитопатогенные грибы и грибоподобные организмы на древесных растениях в Ботаническом саду Южного Федерального университета: первый аннотированный список // Труды Южного Федерального университета: сборник научных трудов. Вып. 6. Ростов-на-Дону-Таганрог: Изд-во Южного Федерального университета, 2021. С. 136–184.
3. Бондаренко-Борисова И.В., Булгаков Т.С. Дендротрофные мучнисторосые грибы (Erysiphaceae) Донецкой городской агломерации (Донецкая область) // Промышленная ботаника. 2019. Вып. 19, № 1. С. 34–46.
4. Heluta V.P., Siahaan S.A.S., Takamatsu S. *Erysiphe symphoricarpi* (Erysiphales), the first record in Ukraine // Ukr. Bot. J. 2016. 73(6). С. 604–611.
5. Булгаков Т.С. Тиростромозы деревьев и кустарников в степной зоне юга России // Актуальные проблемы лесного комплекса. Сборник научных трудов. Вып. 59. Брянск: БГИТУ, 2021. С. 123–128.
6. Русанов В.А., Ребриев Ю.А., Булгаков Т.С. Макромицеты Ботанического сада Южного федерального университета // Труды Ботанического сада Южного федерального университета: монография. Вып. 3. / под ред. Т.В. Вардуни. Ростов-на-Дону; Таганрог: Издательство Южного федерального университета, 2018. С. 66–108.
7. Булгаков Т.С., Бондаренко-Борисова И.В. Силотрофные базидиомицеты Донецкого ботанического сада (г. Донецк, Украина): таксономический состав и экологические особенности // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2019. Вып. 228. С. 189–215.

ТЕРМОТОЛЕРАНТНЫЕ АКТИНОМИЦЕТЫ,

ОБЛАДАЮЩИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ К ГРИБНЫМ ФИТОПАТОГЕНАМ

Ботирова И.С., Ёдгорова Ф.Ш., Бекмухамедова Н.К.
Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан

Наиболее важным и широким классом продуцентов антибиотиков являются микроорганизмы, в частности актиномицеты. Не только мезофильные формы, но и термофильные формы актиномицетов продуцируют различные антибиотики, ингибирующие как бактериальные, так и грибные заболевания у растений.

Экологические обособленную группу в природе представляют термофильные микроорганизмы. Одна из главных отличительных особенности термофилов ускоренный обмен веществ. За последние годы благодаря новейшим методам исследования удалось накопить данные, частично раскрывающие механизмы, при помощи которых клетка защищается от воздействия высокой температуры. Установлено, что наиболее существенные изменения под воздействием высокой температуры претерпевают клеточные белки и липиды, с которыми связаны основные жизненные процессы.

В последнее время все большее внимание уделяется вопросам использования комплексных препаратов из активных штаммов микроорганизмов, что позволяет расширить их активность и спектр действия против фитопатогенов – возбудителей болезней растений. Учитывая растущий интерес к микроорганизмам как биоконтрольным агентам, целью данной работы было выделение и изучение из ризосферы растений местных штаммов актиномицетов, обладающими антагонистической активности к грибным возбудителям болезни растений.

Объектами исследований являются вновь выделенные термотолерантные штаммы актиномицетов, обладающие антагонистическими свойствами к возбудителям грибных заболеваний у растений. В работе использовано классические микробиологические методы выделения, изучения, а также определения систематического положения микроорганизмов.

Из ризосферы томатов Ташкентской области, Ташкентского района выделено 28 изолятов микроорганизмов. Из них в чистую культуру было выделено 22 штаммов термофильных актиномицетов. Проведены исследования по определению динамики роста при разных температурах. Установлено, что среди изученных 22 штаммов актиномицетов 10 культур обладают термотолерантной способностью, растущих при 37-55 оС.

У отобранных 10 термотолерантных штаммов актиномицетов изучали морфологические свойства для определения систематического положения. По совокупности изученных данных штаммы были отнесены к роду *Thermoactinomyces*. Среди исследованных культур обнаружены 3 штамма, которые образуют на среде Чапека серый пигмент.

Проведены исследования по определению антагонистической активности вновь выделенных и отобранных термотолерантных штаммов актиномицетов к возбудителям грибных инфекций у растений. Тест культурами являлись фитопатогены - *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum*, *F.solani*, *F.moniliforme*. Результаты показали, что из апробированных 10 культур термофильных актиномицетов 4 штамма угнетали рост фитопатогенов до 35 мм в диаметре. Отобран активный термофильный штамм *Thermoactinomyces* sp.24, который ингибирует рост фитопатогенов *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum*, *F.solani*, *F.moniliforme* до 35 мм.

Таким образом, установлено, что активные термотолерантные штаммы актиномицетов рода *Thermoactinomyces* с высокой антагонистической способностью являются практически важными для рекомендации их теоретического, практического применения в отраслях сельского хозяйства и разработках новых биопрепаратов для уничтожения грибковых болезней у растений.

ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА САСТАСЕАЕ JUSS. КОЛЛЕКЦИОННОГО ФОНДА ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ

Бутко И.И., Головченко Л.А., Космальская Е.С.
Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Растения семейства *Cactaceae* Juss. занимают особое место в коллекциях ботанических садов. Содержание этих растений требует специфического соотношения температуры воздуха и влажности почвы, нарушение которого приводит к ослаблению растений, способствует повышению их восприимчивости к инфекционным болезням и вредителям [1]. Известно, что суккуленты меньше поражаются болезнями и вредителями, по сравнению с другими растениями [2]. Однако экспозиционная форма содержания представителей этого семейства в оранжереях ботанических садов, регулярное пополнение коллекций влечет за собой и увеличение разнообразия вредных организмов.

В коллекции суккулентных растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси выращивается 493 таксо-

на семейства *Cactaceae*. Такие роды как *Mammillaria* Haw., *Opuntia* (Tourn.) Mill., *Astrophytum* Lem., *Gymnocalycium* Pfeiff. ex Mittler представлены в коллекции наиболее широко. Мониторинг фитосанитарного состояния кактусов показал, что общее состояние растений хорошее. В периоды отключения отопления в теплице, когда может происходить переувлажнение растений при низких температурах воздуха, на отдельных экземплярах кактусов развивается корневая, прикорневая гниль и гниль стебля. Гнили грибной этиологии часто развиваются после пересадки растений, когда происходят различные повреждения корневой системы. Любое повреждение корней открывает ворота для инфекции, что может приводить к гибели растений [1].

Отмечено неоднократное поражение болезнями следующих кактусов. Представители видов *Astrophytum asterias* (Zucc.) Lem. и *Astrophytum myriostigma* Lem. часто поражаются фузариозной гнилью (возбудитель болезни – гриб *Fusarium oxysporum* Schltdl.), при которой наблюдается побурение и разрушение корней, гниль сердцевины стебля, с последующей гибелью растения. На *Echinocereus* sp. отмечается фузариоз в виде прикорневой гнили и сморщивания верхушки побега. На представителях рода *Mammillaria* Haw. выявлено поражение фитофторозной гнилью (*Phytophthora nicotianae* Breda de Haan), приведшей к полному гниению корней, мокрой гнили сердцевины стебля (ткани стали водянистыми, превратились в «кашу»), гибели растений. На ослабленных после пересадки растениях рода *Mammillaria* также выявлены случаи поражения питиевой корневой гнилью (*Pythium* sp.), когда корни приобретают коричневую окраску, кожица легко отделяется, а внутренние ткани

загнивают, что в итоге приводит к увяданию кактуса. На сильно ослабленных растениях отмечали поражение комплексов грибов и грибоподобных организмов, среди которых наиболее часто выделяются *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Verticillium* sp.

На ранней стадии развития гнили поражение кактусов трудно заметить, а на более поздней растение спасти уже очень сложно. Поэтому при культивировании кактусов приоритет следует отдавать поддержанию оптимальных условий выращивания, соблюдению агротехники, профилактическим мероприятиям.

Список литературы

1. Удалова Р.А., Вьюгина Н.Г. В мире кактусов. – М.: Наука, 1983. – 144 с.
2. Хаге В. Кактусы / пер. с нем. А.С.Саломе; под ред. Д.В.Семенова. – М.: Колос, 1992. – 366 с.

ВОЗБУДИТЕЛИ МОНИЛИОЗА ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ Г. ТОМСКА

Чикин Ю. А.

Национальный исследовательский Томский государственный университет

Из поражаемых монилиозом плодовых культур в Томске чаще выращивают яблоню, реже грушу, вишню и сливу. Климатические условия не располагают к промышленному выращиванию плодовых культур, но в городе часто можно встретить посадки мелкоплодных яблонь (ранеток), реже – декоративные посадки вишни и сливы. На территории Сибирского ботанического сада при Томском университете (СибБС) поддерживается коллекция видов и сортов яблони, есть небольшие посадки вишни, сливы и груши. На пригородных дачных участках садоводы-любители выращивают полукультурки и крупноплодные яблони в стелющейся форме, кустарниковые формы вишни, реже грушу и сливу. Нередко эти плодовые культуры страдают от усыхания ветвей, и среди садоводов-любителей Томска бытует мнение, что причина этого – майские заморозки, которые в Томске бывают почти ежегодно.

В начале 21-го века, в связи с потеплением климата и развитием сетевой торговли саженцами, у садоводов-любителей появилась возможность выращивать новые, более крупноплодные, хотя и менее морозостойкие сорта и гибриды. Вместе с тем, расширение географии перевозок саженцев увеличивает риск распространения новых для Сибири видов и форм фитопатогенов, более агрессивных и вредоносных. В этой связи актуальнее становится тема исследования разнообразия состава фитопатогенов, в том числе и возбудителей монилиоза плодовых культур.

В качестве грибов-возбудителей плодовой гнили яблони, груши, вишни и сливы называют разные виды рода *Monilinia* [1]. В практике сельского хозяйства эти виды чаще обнаруживаются на стадии бесполого спороношения (*Monilia* sp.), а нахождение в полевых условиях плодовых тел (апотециев) половой стадии этого сумчатого гриба является достаточно редким событием [2]. Для большинства регионов России характерно распространение на яблоне *Monilia fructigena* Honey [3], в странах Европы – *M. laxa* (Aderh. & Ruhland) Honey (син. *M. cinerea* Bonord.). С начала 21 века в странах Европы и южных районах Казахстана стал распространяться вид *M. fructicola* (G. Winter) Honey, который до этого поражал плодовые деревья в Австралии,

Новой Зеландии и в странах Америки [4]. На Дальнем Востоке России, на территории Восточной Азии, в Японии и северо-восточном Китае на яблоне встречается вид *M. mali* (Takahashi) Whetzel. В 2002 г. на основании генетических исследований венгерскими биологами был выявлен гриб *M. polystroma* G.C.M. Leeuwen, генетически близкий виду *M. fructigena*. Как оказалось, этот вид монилии широко распространён в Японии и Китае, обнаружен в восточной Европе [5]. Современные стандарты идентификации грибов рода *Monilia* предполагают использование ряда культурально-морфологических признаков, а также молекулярно-генетические методики [6,7].

Поводом к данному исследованию послужило то, что летом 2021 г садоводы-любители, приходившие в ТГУ за консультациями, сообщали о скоротечном усыхании ветвей плодовых культур, напоминая поражение монилиозом. Согласно литературе [8], симптомы в виде усыхания отдельных веточек сразу после цветения обычны при поражении яблони грибом *M. cinerea*, хотя эта инфекция считается характерной скорее для Дальнего Востока, нежели для юга Западной Сибири. По наблюдениям сотрудников СибБС, монилиоз проявлялся почти ежегодно на яблонях и груше, хотя в неурожайные годы, поражённые плоды встречались реже как на посадках яблони разных видов, так и на сортах, привитых на морозостойких подвоях. Однако в научной литературе нам не удалось найти достаточно подробного описания исследований монилиоза плодовых культур в условиях Сибири. Поэтому целью нашей работы можно считать предварительную оценку разнообразия возбудителей монилиоза плодовых культур в условиях Томска.

Осенью 2021 г. на территории СибБС и других районах Томска, а также на пригородных дачных участках нами были собраны плоды яблони с признаками монилиоза. В августе 2022 г. также были собраны поражённые монилиозом плоды яблони, груши, сливы. Отмечено, что на некоторых сортах полукультурки (в частности, сорт Авангард селекционера И.М. Леонова) в плодовом саду СибБС при-

знаков монилиоза не наблюдалось, несмотря на поражение соседних деревьев.

При лабораторном осмотре на плодах яблони, собранных в черте города и на ближних дачных участках (около 10 км) кроме монилиоза были обнаружены и другие грибные инфекции: парша (*Venturia inaequalis*), серая гниль (*Botrytis cinerea*), сине-зелёная плесень (предположительно, *Penicillium vulpinum*), сапрофитные грибы из родов *Penicillium*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*. На плодах, собранных на дачных участках, расположенных дальше от города (около 40 км) монилиоз обнаружен не был, чаще присутствовала серая гниль. В 2022 г монилиоз был отмечен на собранных в черте города плодах груши и сливы. На поражённых плодах вишни была обнаружена только серая гниль. В ходе наблюдений признаки монилиоза и серой гнили были также обнаружены в 2021 и 2022 г. на плодах ирги (*Amelanchier sp.*) – ягодного кустарника, который нередко выращивают как в черте города, так и на дачных участках.

С поражённых монилиозом плодов было выделено в чистую культуру (на сусло-агар) 20 изолятов грибов с культурально-морфологическими признаками, характерными для *M. fructigena*. Полученные изоляты грибов различались степенью выраженности отдельных культурально-морфологических признаков, такими как: окраска, высота и плотность воздушного мицелия; накопление тёмного пигмента в питательной среде по мере роста колонии; интенсивность конидиального спороношения, присутствие в культуре конидий разного типа (цепочек макроконидий и клейких головок микроконидий); образование в чистой культуре тёмноокрашенных склероциальных стром и отдельных склероциев.

По характеру роста воздушного мицелия обнаружили разные варианты, в том числе колонии с пушистым белым

воздушным мицелием, который со временем приобретал сероватый оттенок; колонии с бархатистым светло-серым воздушным мицелием и редкими клочками пушистого белого мицелия. По степени пигментации субстратного мицелия колонии также были выявлены разные варианты: со сплошной тёмно-коричневой окраской; с более тёмными участками на общем фоне светло-коричневого цвета; со сплошной светло-коричневой окраской. По характеру образования склероциев были также отмечены разные варианты: с широкими дугообразными плоскими склероциальными стромами, расположенными концентрически; с отдельными выпуклыми склероциями размером 3-7 мм. У части изолятов было отмечено появление через 7-10 суток роста в культуре участков со слизистыми капельками, в которых при микроскопии было обнаружено микроконидиальное спороношение. Микроконидии были шаровидные, размером около 3 мкм, на фиалидах (размером 10×3,4 мкм), собранных в небольшие пучки. Характерное для рода *Monilia* макроконидиальное спороношение в культуре на сусло-агаре появлялось редко, при содержании изолятов в пробирках цепочки макроконидий были заметнее на тонком слое среды, в верхней части пробирки. Макроконидии были удлиненно-эллиптической формы, размеры конидий у изолятов с разных растений несколько различались (см. табл. 1). При измерении спор использовали микроскоп с цифровой камерой (ZEISS AXIO Lab. A1).

Сравнение полученных нами размеров спор с описанными в литературе (см. табл. 2) не позволяет сделать однозначных выводов о видовой принадлежности исследованных нами изолятов. Вероятно, размеры макроконидий у видов монилии существенно меняются в зависимости от субстрата, на котором развиваются колонии гриба.

Таблица 1. Результаты измерения макроконидий у возбудителей монилиоза в Томске

Виды монилии (предположительно)	Размеры спор, мкм, (мин.-макс. и среднее)	Растение-хозяин, год сбора
<i>M. fructigena</i>	10,3-15,4 × 5,9-8,6 (ср. 13,3 × 7,2)	яблоня, 2021 г.
<i>M. cinerea</i>	9,4-18,6 × 6,3-10,5 (ср. 12,7 × 8,3)	слива, 2022 г.
<i>M. fructigena</i>	12,9-28,6 × 8-18,3 (ср. 20,1 × 11,5)	груша, 2022 г.
<i>M. fructigena</i>	14,2-23,4 × 7,4-11,5 (ср. 17,6 × 9,1)	ирга, 2022 г.

Таблица 2. Размеры макроконидий у возбудителей монилиоза (по литературе)

Виды монилии	Размеры конидий, мкм	Лит. источники
<i>M. fructigena</i>	20-24 × 12-14	Пидопличко, 1977 [3]
<i>M. cinerea</i>	12-13 × 9-10	Пидопличко, 1977 [3]
<i>M. cinerea f. mali</i>	14-19 × 5-9	Пидопличко, 1977 [3]
<i>M. polystroma</i>	13-17 × 9-11	Petróczy, Palkovics, 2009 [5]
<i>M. fructicola</i>	8-28 × 5-19 (чаще 12-16 × 8-11)	Bulletin OEPP, 2009 [9]
<i>M. laxa</i>	7,7-17,7 × 3,9-9,1	Лесик, 2013 [6]
<i>M. fructigena</i>	13,2-28,7 × 8,4-15,8	Лесик, 2013 [6]

В качестве предварительных выводов можно предположить, что в Томске и его окрестностях основными возбудителями монилиоза яблони, груши и сливы являются грибы *M. fructigena* и *M. cinerea*. Монилиоз проявляется на яблоне, груше и сливе не только осенью в форме плодовой гнили, но и периодически весной в форме ожога ветвей. В большей степени поражаются монилиозом деревья полукультурной яблони с более крупными плодами, хотя инфекция встречалась и на мелкоплодных формах, а также на дикорастущей сибирской яблоне. При обследовании дачных участков инфекция монилии была также выявлена на плодах ирги, причём развитие монилиоза на ирге было отмечено на 7-10 дней раньше, чем на яблоне. Это может иметь значение для прогнозирования поражения яблони и планирования мероприятий по химической защите. Вероятными источниками инфекции монилиоза для плодовых культур в условиях Томска могут быть некоторые ягодные кустарники, а распространителями – птицы и насекомые. В перспективе мы надеемся выяснить, встречаются ли в Томске разные виды монилии, описанные на яблоне, груше, сливе и вишне или только разные биотипы широко распространённого вида *M. fructigena*. Также было бы полезно исследовать, возможна ли передача инфекции монилиоза с ирги на яблоню, учитывая существование специализированного вида монилии (*M. amelanchieris*), который распространён на ирге в странах Северной Америки [10].

Список литературы

1. Бильдер И. В. Грибы рода *Monilinia* Honey на плодовых культурах в России // II съезд микологов России: тезисы докладов. - М., 2008. - С. 167-168.

2. Букреев Д.Д., Трусевич А.В., Букреев Я.Д. В Курской области обнаружена сумчатая стадия *Monilia fructigena* // Защита и карантин растений, 2000; N 1. - С. 36-37.
3. Пидопличко Н.М. Грибы - паразиты культурных растений. Определитель: в 2-х т. - Киев: Наукова думка, 1977. - т.1. Грибы несовершенные. - 299 с.
4. First report of *Monilinia fructicola* in France // Bulletin OEPP, 2002, V. 003.
5. Petróczy M, Palkovics L, 2009. First report of *Monilia polystroma* on apple in Hungary. European Journal of Plant Pathology, 125:343-347.
6. Лесик Е.В. Видовая идентификация грибов рода *Monilinia* возбудителей монилиоза яблони в Беларуси // Проблемы микологии и фитопатологии в XXI в. / Всерос. науч.-исслед. ин-т защиты растений [и др.]. - Санкт-Петербург, 2013. - С. 169-171.
7. Lane C. R. A synoptic key for differentiation of *Monilinia fructicola*, *M. fructigena* and *M. laxa*, based on examination of cultural characters // Bulletin OEPP / EPPO Bulletin, 2002, 32, p. 489-493.
8. Стогниенко О.И. Возбудители монилиоза и альтернариоза плодовых культур // Защита и карантин растений, № 4, 2007 - С. 48-49.
9. *Monilinia fructicola* // Bulletin OEPP - Oxford, 2009; Vol. 39, N 3. - P. 337-343.
10. Batra L.R. World species of *Monilinia* (Fungi): Their ecology, biosystematics and control. // Mycol. Mem., 1991, V. 16, p. 1-246.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ТИАБЕНДАЗОЛУ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ С РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ПАСЛЕНОВЫЕ

Цинделиани А.А.¹, Скоков Д.А.¹, Ярмеева М.М.², Еланский С.Н.^{1,2}, Чудинова Е.М.¹

¹Российский Университет Дружбы Народов, Москва

²Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова

Тиабендазол – популярный фунгицид, более 40 лет успешно защищающий растения от грибных болезней. Разные виды и даже штаммы грибов обладают различной степенью чувствительности к тиабендазолу. В Каталоге пестицидов и агрохимикатов препараты с тиабендазолом рекомендованы для борьбы с фузариозом, гельминтоспориозом, фомозом картофеля, и широким рядом заболеваний у других сельскохозяйственных культур. У некоторых видов грибов зарегистрированы мутации в гене β-тубулина, вызывающие устойчивость к тиабендазолу. У устойчивых к тиабендазолу патогенов пшеницы *Colletotrichum cereale*, *S. truncatum*, *Penicillium expansum* мутация выявлена в 198 кодоне [1,2,3], у широко распространённого *Botrytis cinerea* в 198 и 200 кодоне [4], у патогенов злаковых культур *Tapesia yallundae* и *T. aciformis* в 198, 200 или 240 кодоне [5]. В представленной работе изучалась чувствительность к тиабендазолу грибов, ассоциированы с культурными растениями семейства Пасленовые.

Материалы и методы

В работе использовали чистые культуры грибов из коллекций лаборатории молекулярного анализа микроорганизмов АТИ РУДН и кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ. Тестирование проводили на картофельно-глюкозном агаре с добавлением препара-

та Имикар, КС в концентрациях (по действующему веществу – тиабендазолу) 1, 10, 100 мг/л. В качестве контроля использовали среду без фунгицида. Культивировали при температуре 25°C. В момент, когда диаметр колонии на бесфунгицидном контроле достигал 2/3 от диаметра чашки Петри (40 мм для *Helminthosporium solani*), измеряли два взаимно перпендикулярных диаметра, после чего значения усредняли. Все измерения проводили в 3 повторностях, результаты которых также усредняли. Для каждого штамма путём математической обработки определяли показатель ЕС50 (концентрация фунгицида, необходимая для замедления скорости радиального прироста колонии на 50 % относительно контроля).

Наращивание мицелия и выделение ДНК проводили по методике, описанной в статье [7]. Для ПЦР штаммов *S. coccoodes* использовали праймеры TUB2-1 и TUB2-2; состав смеси и условия реакции - как указано в статье [1], штаммов *H. solani* праймеры SS-f SS-r [6].

Клубневой анализ картофеля, проводили на клубнях, обработанных перед закладкой на хранение препаратом Имикар (тиабендазол 5600 мг/л., рабочий раствор был приготовлен согласно рекомендациям Государственного каталога агрохимикатов и пестицидов (2021) В качестве контроля использовали клубни, обработанные водой. Клубни просматривали под бинокулярным и учитывали ха-

бактерные поражения, вызываемые *C. coccodes*, *H. solani*, *Rhizoctonia solani*.

Результаты и обсуждение

Были протестированы 5 штаммов *C. coccodes*, выделенных с плодов томата, 2 с плодов перца, 4 с плодов баклажана и 29 – из разных органов картофеля (5 штаммов из стеблей, 2 – из листьев и 22 – из клубней), 21 штамм *Helminthosporium solani* и 51 штамм *Rhizoctonia solani*, выделенных с клубней картофеля из разных регионов России, 19 штаммов *Fusarium* sp., выделенных с плодов томата, перца и клубней картофеля. Штаммы грибов *Rhizoctonia solani* и *Fusarium* были чувствительны к тиabendазолу (EC₅₀ 7,2 и 5,5 соответственно). У штаммов *C. coccodes*, чувствительность к тиabendазолу различалась на порядок, показатель EC₅₀ более чувствительных составлял 0,7-0,9 мг/л, что соответствует EC₅₀ у чувствительных к тиabendазолу *n*. EC₅₀ менее чувствительных штаммов 20,3-89,5 мг/л., что существенно ниже устойчивости, отмеченной для резистентных видов [1,7]. При анализе последовательности гена β-тубулина томатные и картофельные штаммы *C. coccodes* четко разделились на две клады, но по аминокислотной последовательности устойчивые и чувствительные штаммы не отличались и не содержали мутации в 198, 200 или 240 кодонах.

Из 21 штамма *Helminthosporium solani* 1 штамм был устойчивый (EC₅₀ >1000), в нем была обнаружена мутация по 198 кодону, устойчивые штаммы с такой мутацией обнаруживались ранее как нашей группой, так и коллегами из Англии [6,7,8].

При исследовании обработанных перед закладкой на хранение клубней тиabendазолом было обнаружено существенное снижение количества клубней, пораженных *C. coccodes*, *Helminthosporium solani*, *Rhizoctonia solani* (в 2, 2, 1,5 раз соответственно по сравнению с контролем). На поверхности обработанных клубней мы обнаружили грибы, принадлежащие видам *Penicillium* sp. и *Cephalotrichum asperulum*. Эти грибы были описаны ранее как раневые паразиты. Выделенные штаммы *Penicillium* sp. и *C. asperulum* обладали устойчивостью к тиabendазолу (EC₅₀ *Penicillium* sp. 119 мг/л, *C. asperulum* – от 82 до 978 мг/л).

Исследование выполнено при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 20-016-00139).

КЛАССИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ *PHYTOPHTHORA INFESTANS* И ЗАЩИТА ПАСЛЕНОВЫХ ОТ ФИТОФТОРОЗА

Демидова В.Н., Семенюк И.Н., Мельникова В.А., Уланова Т.И., Кузнецова М.А.
ФГБНУ ВНИИФ, Большие Вяземы, Московская область

Фитофтороз пасленовых, вызываемый оомицетом *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, остается наиболее вредоносным заболеванием картофеля и томата. В годы эпифитотий урожай томата погибает полностью, а продуктивность картофеля нередко снижается в 1,5-2 раза (Кузнецова М.А. и др., 2020; Зейрук В.Н. и др., 2020).

Во многих странах мира, включая США, Канаду, страны ЕС и Россию, осуществляется регулярный мониторинг изменений в популяциях *P.infestans* с использованием раз-

Список литературы

1. Wong FP, de la Cerda KA, Hernandez-Martinez R, Midland SL. Detection and Characterization of Benzimidazole Resistance in California Populations of Colletotrichum cereale. // Plant Disease. 2008. V.92(2). P.239-246. Doi: 10.1094/PDIS-92-2-0239.
2. Torres-Calzada C., Tapia-Tussell R., Higuera-Ciapara I., Martin-Mex R., Nexticapan-Garcez A., and Perez-Brit D. Sensitivity of Colletotrichum truncatum to Four Fungicides and Characterization of Thiabendazole-Resistant Isolates. // Plant Disease. 2015. V.99. P. 1590-1595.
3. Cabañas R, Castellá G, Abarca ML, Bragulat MR, Cabañas FJ. Thiabendazole resistance and mutations in the beta-tubulin gene of Penicillium expansum strains isolated from apples and pears with blue mold decay. // FEMS Microbiol Lett. 2009. V.297(2). P. 189-195. Doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01670.x. Epub 2009 Jun 3. PMID: 19538510.
4. Yarden O; Katan T. Mutations leading to substitutions at amino acids 198 and 200 of beta-tubulin that correlate with benomyl-resistance phenotypes of field strains of Botrytis cinerea. // Phytopathology 1993, 83, 1478–1483.
5. Albertini C; Gredt M; Leroux P. Mutations of the β-Tubulin gene associated with different phenotypes of benzimidazole resistance in the cereal eyespot fungus Tapesia yallundae and Tapesia acuformis. // Pestic. Biochem. Physiol. 1999, 64, 17–31
6. McKay GJ, Cooke LR. A PCR-based method to characterise and identify benzimidazole resistance in Helminthosporium solani. // FEMS Microbiol Lett. 1997 Jul 15;152(2):371-378.
7. Kutuzova IA, Kokaeva LY, Pobedinskaya MA, Krutyakov YA, Skolotneva ES, Chudinova EM, Elansky SN Resistance of Helminthosporium solani strains to selected fungicides applied for tuber treatment // Journal of Plant Pathology. 2017. V.99(3). P. 635–642.
8. Chudinova EM, Kokaeva LY, Elansky SN, Kutuzova IA, Pertsev AS, Pobedinskaya MA The occurrence of thiabendazole-resistant isolates of Helminthosporium solani on potato seed tubers in Russia // Journal of Plant Diseases and Protection. 2020. V.127. P. 421–423. Doi: https://doi.org/10.1007/s41348-020-00313-1

личных маркеров (Statsyuk N.V et al. 2014, Fry W.E., et al., 1992).

Оценка структуры популяций патогена показывает, что в немалой степени изменениям в локальных популяциях способствует активная торговля семенным и товарным материалом картофеля и томата, обеспечивающая вместе с инфицированным материалом поступление новых генотипов в локальные популяции *P.infestans*. По данным ряда авторов (Elansky S.N. et al., 2007) в восьмидесятых годах прошлого столетия было отмечено увеличение вредонос-

ности фитофтороза на картофеле и томате. В популяциях *P.infestans* стали преобладать сложные расы, с A1 и A2 типом совместимости, что во многих случаях предполагает образование ооспор, способных перезимовывать в почве на растительных остатках (Смирнов А.Н., 2003).

Существенно возросла агрессивность фитофтороза - он стал менее зависим от температуры и влажности воздуха. Болезнь стала поражать сорта картофеля, которые ранее считались устойчивыми, существенно увеличился риск заражения клубней (Lees et al., 2009, Кузнецова 2020).

Взросшая агрессивность патогена *P.infestans* стала причиной резкого снижения эффективности принятых ранее методов защиты картофеля и томата, включающих - выращивание устойчивых сортов к фитофторозу и проведение защитных обработок фунгицидами (Филиппов А.В и др., 2016).

Для разработки эффективных стратегий контроля фитофтороза необходимо учитывать свойства штаммов *P. infestans*, структуру популяций патогена и прогнозировать возможные изменения этих параметров в ближайшем будущем.

Целью исследований было сравнительное изучение популяций *P.infestans*, выделенных из пораженных растений картофеля и томата в Московской области.

Для сравнительного анализа изолятов использовали ряд методов, основанных на изучении расового состава, вирулентности, типа совместимости (спаривания) изолятов *P.infestans*, устойчивости их к металаксилу и оценке агрессивности на наборе сортов российской и зарубежной селекции.

Изоляты *P. infestans* собраны в 2020 году в Озерском, Коломенском и Ступинском районах с посадок картофеля и в Одинцовском районе с посадок картофеля и томата. Всего было оценено 160 изолятов *P. infestans*.

Изучение вирулентности изолятов *P.infestans* проводили на отделенных листьях сортов дифференциаторов в лабораторных. Определение типа совместимости (ТС) изолятов *P.infestans* проводили на дисках клубней картофеля сорта *Sante*. Для определения ТС использовали тестерные штаммы: 2К, принадлежащий к типу совместимости A1, и 48К - A2 типа совместимости (Кузнецова М.А. и др., 2016). Определение устойчивости изолятов *P. infestans* к металаксилу проводили на дисках клубней картофеля сорта *Santé*, обработанных 1, 10 и 100 мг/л растворами фунгицида (Statsyuk N.V et al. 2014). Определение уровня агрессивности изолятов *P.infestans* проводили на сортах картофеля с различным уровнем частичной устойчивости к фитофторозу (Кузнецова М.А. и др., 2016).

Результаты

Популяции *P.infestans* полученные из четырех картофелеводческих районов Московской области были представлены в основном сложными расами, содержащими от 5 до 11 генов вирулентности.

В популяции из Коломенского района наиболее часто встречались расы с 8 генами вирулентности в различной их комбинации (72,1%). Частота отдельных генов вирулентности: 1.2.3.4.5.6.7.9.10.11 составила 9,4%; ген 8 встречался с частотой 5,8%. Фактор вирулентности (FV) для популяции из Коломенского района составил - 7,8.

В популяции из Ступинского района самая сложная раса, содержащая 10 генов (1.2.3.4.5.7.8.9.10.11) встречалась с частотой 50%. Частота отдельных генов вирулентности: 1.3.4.7.9.10.11 составила 10,5%; гены 2, 6 и 8 встре-

чались с частотой 5,3%, каждый. FV для популяций из Ступинского района составил 9,5.

В популяции из Озерского района самая сложная раса с 10 генами (1.2.3.4.5.7.8.9.10.11) встречалась с частотой 42,8%. Гены вирулентности: 1,2,3,4,7,9,10,11 встречались с частотой от 9,8% до 11,5%; гены 5 и 6 с частотой 8,2% и 6,5%, соответственно; 8 ген встречался реже других (1,6%). FV для популяции из Озерского района составил 8,7.

В «картофельной» популяции из Одинцовского района самая сложная раса с 11 генами вирулентности встречалась с частотой 6,3% и расы с 10 генами с частотой 32,8%. Гены вирулентности: 1,2,3,4,7,9,10,11 встречались с частотой от 9,8% до 11,1%; гены 5 и 6 - с частотой 7,3% и 5,5%, соответственно. Реже других встречался 8 ген (1,9%).

В «томатной» популяции из Одинцовского района наиболее часто встречались расы с четырьмя генами вирулентности: 1.3.4.9 (40%) и 1.3.4.7 (40%). Чаще других встречались гены: 1,3,4 гены с частотой 20%, каждый; гены 7 и 9 с частотой 12%; 2, 5 и 6 гены с частотой 8%. Ген 8 отсутствовал.

FV для популяций из Одинцовского района для «картофельной» популяции - 8,5 и для «томатной» - 5,2.

Фактор вирулентности (FV) для популяций составил: из Озерского района 8,7; Ступинского - 9,5; Коломенского - 7,8; Одинцовского для «картофельной» популяции - 8,5 и для «томатной» - 5,2.

В «картофельной» популяции из Одинцовского района преобладали чувствительные к металаксилу изоляты (59%), резистентные встречались с частотой 15% и слабоустойчивые (промежуточного типа) с частотой 26%.

Большая часть «томатных» изолятов (83%) проявили высокую чувствительность к металаксилу; 17% были высокоустойчивые (резистентные) к данному действующему веществу.

В популяции из Коломенского района преобладали высокоустойчивые (резистентные) к металаксилу изоляты (60%); 7% обнаруживали слабую устойчивость (промежуточного типа) и 33% были чувствительными к этому фунгициду.

В популяции из Озерского района 45% изолятов показали высокую устойчивость (резистентные) к металаксилу и 55% обнаруживали слабую устойчивость (промежуточного типа) к этому фунгициду.

В популяции из Ступинского района половина изолятов (50%), была отнесена к группе чувствительные к металаксилу, 25% к группе высокоустойчивые (резистентные) и 25% к группе слабоустойчивые (промежуточного типа).

«Картофельные» изоляты из Одинцовского, Ступинского, Озерского и Коломенского районов были представлены A1 и A2 типом совместимости в соотношении: 43%:57%, 50%:50%, 71%:29%, 33%:67%, соответственно. «Томатные» изоляты из Одинцовского района были представлены в соотношении A1(80%):A2(20%).

Картофельные изоляты *P.infestans*, выделенные в различных районах Московской области, проявляли достаточно высокий уровень агрессивности на 20 испытываемых сортах картофеля. При заражении изолятами из Одинцовского района 79% сортов были отнесены к группе восприимчивых, 18% - умеренно-восприимчивых, 2% - умеренно-устойчивых и 1% - устойчивых.

При заражении изолятами из Коломенского района 71% сортов - отнесены к группе восприимчивых, 24% - умеренно-восприимчивых, 2% - умеренно-устойчивых и 3% - устойчивых.

При заражении изолятами из Озерского района 72% сортов - отнесены к группе восприимчивых, 23% - уме-

ренно-восприимчивых, 3% - умеренно-устойчивых и 2% - устойчивых.

При заражении изолятами из Ступинского района 76% сортов - отнесены к группе восприимчивых, 20% - умеренно-восприимчивых, 3% - умеренно-устойчивых и 1% - устойчивых.

Таким образом, максимальная степень разнообразия отмечена для всех тестируемых популяций из Московской области. Очевидно, данный факт, связан с высоким уровнем производства пасленовых, а, следовательно, с большими объемами поставок семенного материала картофеля и томата в данный регион. Наличие А1 и А2 типов совместности в «картофельных» и «томатной» популяциях примерно в равном соотношении способствует формированию ооспор в различных районах Московской области и возможность их прорастания, что позволит за короткий промежуток времени сформировать более агрессивную, высоковирулентную популяцию патогена, способную рано поражать посадки картофеля и томата, а также преодолевать устойчивость районированных и перспективных сортов картофеля и томата к фитофторозу.

Полученные в рамках проведенного исследования данные подтверждают, что популяции патогена имеют широкое разнообразие сложных рас с высоким показателем фактора вирулентности, отличаются повышенной агрессивностью, присутствием А1 и А2 типов совместности и присутствием в популяциях разных по чувствительности к металаксилу штаммов. Наши данные согласуются с общей тенденцией, отмечаемой в последнее время в Западной и Центральной Европе.

По нашему мнению, приведенные выше данные по мониторингу зональных популяций возбудителя фитофтороза могут быть полезными для специалистов селекционных центров, работающих над созданием устойчивых сортов картофеля и томата. При выращивании восприимчивых сортов картофеля и томата следует проводить профилактические обработки фунгицидами, разрешенными к применению на территории РФ.

При выборе конкретных фунгицидов следует учитывать антирезистентную стратегию с тем, чтобы снизить риски развития резистентных штаммов патогена, фазу развития растений и функциональные свойства фунгицидов.

Для снижения вредоносности фитофтороза важно соблюдать пространственную изоляцию между участками томатов и картофеля, использовать семенной материал, соответствующий принятому в стране ГОСТу.

Список литературы

1. Кузнецова М.А., Стацюк Н.В., Рогожин А.Н., Боровский К.В. Опасное заболевание картофеля. Защита и карантин растений. 2020. № 2. С. 7-13.
2. Зейрук В.Н. и др. Атлас болезней, вредителей, сорняков картофеля и мероприятия по борьбе с ними
3. Зейрук В.Н., Жевора С.В., Васильева С.В., Белов Г.Л., Долженко В.И., Кузнецова М.А., Анисимов Б.В., Еланский С.Н. - Москва, 2020.
4. Statsyuk N.V., Semina Yu.V., Perez F.G.M., Larsen M., Kuznetsova M.A., Kozlovskaya I.N., Morozova E.V., Deahl K.L., Grunwald N.J. Characterization of Russian *Phytophthora infestans* populations: Dna fingerprinting and SSR analysis /PPO-Special Report. 2014. № 16. С. 255-266.
5. Fry W.E., Goodwin S.P., Matuszak J.M. Population genetics and intercontinental migrations of *Phytophthora infestans* // Annual Review of Phytopathology. 1992. № 30. P. 107-129.
6. Elansky S.N., Dyakov Y.T., Milyutina D.I., Apryshko V.P., Pobedinskaya M.A., Filippov A.V., Kozlovsky B.E., Kuznetsova M.A., Rogozhin A.N., Statsyuk N.V.
7. LATE BLIGHT OF POTATO IN RUSSIA// Potato production and innovative technologies. Haverkort A.J., Anisimov B.V. Editors:Anton J. Haverkort and Boris V. Anisimov. Wageningen, 2007. С. 262-273.
8. Смирнов А.Н. Оценка происхождения ооспор в природных популяциях *Phytophthora infestans* в Московской области. Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2003. № 4. С. 87.
9. Lees A.K., Cooke D.E.L., Stewart J.A. *Phytophthora infestans* population changes implications // Eleventh Euroblight Workshop. PPO Special Report, 2009. № 13. P. 55-60.
10. Филиппов А.В., Кузнецова М.А., Рогожин А.Н. Как сохранить чувствительность возбудителя фитофтороза картофеля к фунгицидам. / Картофель и овощи., 2016. № 4. С. 26-29.
11. Кузнецова М.А., Козловский Б.Е., Бекетова М.П., Соколова Е.А., Малюченко О.П., Алексеев Я.И., Рогозина Е.В., Хавкин Э.Е. Фитопатологическая и молекулярная характеристика изолятов *Phytophthora infestans*, собранных с устойчивых и восприимчивых генотипов картофеля. Микология и фитопатология. 2016. Т. 50. № 3. С. 175-184.

ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ПАСМО ЛЬНА *SEPTORIA LINICOLA*

И.П. Дудченко, А.Г. Шуковская, Ю.В. Цветкова, Г.Н. Дудченко

Пасмо является опасным заболеванием для культурных и дикорастущих видов льна, и его возбудитель, *Mycosphaerella linicola* Naumow (*Septoria linicola* (Speg.) Garas.), имеет карантинный статус для ряда стран, закупающих льнопродукцию в России, таких, как Египет, Узбекистан, Корея, Китай и Беларусь. Современная диагностика фитопатогенов включает в себя комплекс мер, основанных на сочетании молекулярно-генетических и классических методов. В исследованиях, проведенных в 2021 году на базе ФГБУ «ВНИИКР», выявлены и проиллюстрированы важные аспекты прохождения жизненного цикла *Septoria*

linicola, которые позволяют идентифицировать возбудителя пасмо льна в лабораторных условиях в короткие сроки.

Целью данной работы было изучение биологических особенностей возбудителя пасмо льна и разработка специфических праймеров для его идентификации. В работе использовались изоляты *S. linicola* и гербарные образцы пораженных растений льна из микологической коллекции ФГБУ «ВНИИКР».

Цикл развития гриба имеет три стадии, отличающиеся между собой характером спороношения и морфологией спороносящих структур (Проценко, 1964; Примаковская, 1971).

I стадия – пикнидиальная (*S. linicola*), в этой стадии в центральной части поражённых участков образуются хорошо видимые пикниды.

II стадия – конидиальная, в этой стадии формируется спороношение в виде малозаметных небольших лож типа *Melanconiales/Septogloeum*, от которых отделяются споры похожие на *S. Linicola*.

III стадия – сумчатая стадия *M. linicola* представлена плодовыми телами псевдотециями, которые образуются на стеблях больных растений в летне-осенний период.

В своем развитии, в зависимости от внешних условий, гриб может проходить как все три стадии жизненного цикла, так и различное их сочетание. При этом конидиальная стадия может предшествовать пикнидиальной. Сумчатая стадия в цикле развития гриба образуется редко и не всегда попадает в поле зрения исследователей, но по утверждению французских ученых, эта стадия играет значительную роль, как в адаптации возбудителя к внешним условиям, так и в распространении инфекции во Франции и Европе (Paumier et al., 2020).

Отличительной особенностью возбудителя пасмо льна является то, что в процессе развития анаморфных стадий, гриб может образовывать как настоящие конидиальные спороношения, так и целый спектр переходов от свободных конидиеносцев до открытых и в разной степени закрытых лож, производящих конидии (Курчакова, 2009; Проценко, 1964; Rataj, 1953; Wollenweber, 1938). Это подтверждают и наши исследования, проведенные в 2021 году в рамках работы по изучению биологии возбудителя.

Полученные результаты подтвердили возможность точной идентификации *S. linicola* биологическим методом путем анализа его культурально-морфологических характеристик.

Основные моменты идентификации возбудителя этим методом можно охарактеризовать следующим образом:

1. Чистые культуры *S. linicola* имеют характерные особенности и отличаются своим внешним видом, динамикой роста от культур других возбудителей, которые можно встретить на семенах и растениях льна. При этом основными критериями являются структура колонии, профиль поверхности, ее цвет, тип спороношения и динамика роста. Исследуемые изоляты образовывали выпуклые, медленнорастущие колонии складчатого типа с наличием приподнятого центра. Оптимальными питательными средами для получения необходимых диагностических признаков *S. linicola* являются солодово-дрожжевой агар и 2% КГА.

2. Отличительной особенностью развития гриба является совокупность нескольких типов спороношения - от свободных конидиеносцев до меланкониальных лож и пикнид. В зрелых колониях эти типы спороношения, в различных сочетаниях, могут присутствовать одновременно, образуя смешанный тип спороношения.

3. Споры *S. linicola*, несмотря на различные источники их образования имеют одинаковые, в пределах погрешности, морфологические характеристики, что облегчает идентификацию возбудителя. Это бесцветные, палочковидные, прямые или несколько изогнутые споры, с закругленными концами, с одной-тремя хорошо различимыми

перегородками. В нашем исследовании размер спор составил 16,8-28(40) x 1,8-3,1 мкм. Морфологические характеристики конидий являются основным диагностическим параметром.

4. Единичные конидии, по которым можно идентифицировать возбудителя, появляются уже на 3-й день развития колонии. На 5-й день, при появлении темного мицелия и образования меланкониальных лож, интенсивность спорообразования заметно увеличивается.

Развитие колоний протекает неоднозначно. Пикниды на агаризованных средах могут образовываться в различные сроки – от 10 до 30 дней развития колонии, а могут не образовываться вовсе. Но споры, как диагностический материал, будут присутствовать в любом случае.

Учитывая, что в естественных условиях заспоренность семян зараженного урожая составляет от 100 до 500 спор *S. linicola* на одно семя (Brentzel, 1926), в исследованиях использовался метод смыва семян и центрифугирования. Для повышения эффективности метода были подобраны параметры проведения, которые позволили избежать излишнего ослиzenia проб и получения качественных результатов при микроскопировании. При этом учитывались навеска семян, время взбалтывания, частота и время центрифугирования.

При разработке специфических праймеров был проведен анализ нуклеотидных последовательностей, который позволил выявить ген фактора элонгации трансляции (EF1), обладающий высоким межвидовым полиморфизмом, достаточным для разделения видов в пределах рода *Septoria*. На основе этого были разработаны видоспецифичные праймеры для классической ПЦР с последующей визуализацией результатов при помощи электрофореза. Полученные праймерные системы показали высокую специфичность и чувствительность по отношению к целевому виду.

Список литературы

1. Курчакова Л. Эколого-генетические аспекты устойчивости льна к септориозу (пасмо) в селекции льна-долгунца: дисс. д-ра. с.-х. наук 06.01.05. – М., 2009 – 315 с
2. Примаковская М., 1971. Пасмо льна. - Защита растений, № 2: 49-50.
3. Проценко Е., 1964. Сб. по карантину растений. М.: Колос, 1964. Вып. 16. С. 5-63.
4. Brentzel, W.E. The pasmo disease of flax // Journ. Agric. – 1926. – 32. - № 1. - 25-37 P.
5. Paumier D et al., 2020. First report of the sexual stage of the flax pathogen *Mycosphaerella linicola* in France and its impact on pasmo epidemiology. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.17.156984>
6. Rataj K., 1953. *Septoria linicola* (Speg.) Gar. V Československu Sbornik Československe. - Akademick. Zemedelskyck. Ved, № 3: 229-243.
7. Wollenweber H., 1938. “Sphaerelle linicola” n.sp. Die Ursache der Amerikanischer Leinpest. (Pasma – oder “Septoría” – Krankheit). - Revista de Botanica del Instituto Miguel Lillo, Lilloa. Tucuman Argentina, 2: 483-495.

ГРИБЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАСТЕНИЯМИ КАРТОФЕЛЯ И ТОМАТА В УГАНДЕ: ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, ПАТОГЕННОСТЬ, УСТОЙЧИВОСТЬ К ФУНГИЦИДАМ

А.С. Еланский¹, С.М. Миславский¹, Е.М. Чудинова¹, С.Н. Еланский^{1,2}

¹Российский университет дружбы народов, Москва

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Картофель – одна из самых популярных и перспективных культур в Уганде. Он является одной из основных культур в доходах мелких фермеров. Ежегодно в Уганде производится около 800000 тонн картофеля при средней урожайности немногим более 7 т/га. Выращивают картофель преимущественно мелкие фермеры, не имеющие агрономического образования. Средний размер поля – 0,97 га. Самый популярный, выращиваемый практически повсеместно сорт – *Victoria*. Он не отличается высокой урожайностью и устойчивостью к заболеваниям, зато является скороспелым, что и привлекает местных фермеров – можно получать два урожая в год и не заниматься производством картофеля в сухой сезон (с ноября по февраль).

До 60% урожая картофеля в Уганде теряется от поражения болезнями и вредителями. Высокие потери и низкая урожайность связаны, в первую очередь, с недостаточной агротехникой по поддержанию плодородия почвы, высокими ценами на пестициды, отсутствием качественного семенного материала и оптимального севооборота. Для угандийских фермеров затраты на пестициды составляют до 50% стоимости получаемой продукции.

Для эффективной защиты картофеля от болезней необходимо знать видовой состав ассоциированных с картофелем микроорганизмов. Подобных работ по Уганде нам найти не удалось. Целью настоящей работы было определение видового разнообразия грибов, ассоциированных с растениями картофеля и томата, изучение их патогенности и устойчивости к некоторым популярным фунгицидам.

Материалы и методы.

Образцы пораженных клубней картофеля и плодов томата отбирались в фермерских хозяйствах в разных частях Уганды. Выделение проводилось с использованием метода влажных камер, либо кусочки пораженной ткани с мицелием гриба помещались напрямую на овсяную агаризованную среду с добавлением пенициллина.

Для выделения ДНК мицелий гриба растирали с жидким азотом в ступке, гомогенизированный материал переносили в микропробирку объемом 1,5 мл. В нее добавляли 800 мкл лизирующего СТАВ-буфера (100mM TRIS Ph 8,0; 1,4M NaCl, 20mM EDTA, СТАВ solid 2% (W/V)). После перемешивания смесь инкубировали в течение часа на водяной бане при температуре 65°C, очищали хлороформом, осаждали смесью изопропанола с ацетатом калия (1/10 объема, 5M, pH=4,6), промывали 70%-ным этанолом, затем растворяли в деионизованной воде для хранения.

ПЦР проводили на амплификаторе «Biometra». На одну пробу брали по 0,5 мкл 100 мМ прямого и обратного праймеров, 0,5 мкл dNTP 10мМ каждый, 0,5 мкл ДНК-полимеразы (5 ед/мкл), 2,5 10x буфера для ПЦР. Амплифицировали видоспецифичные участки ДНК ITS (праймеры ITS4 и ITS5), фрагменты генов бета-тубулина (*Bt2a* и *Bt2b*) и *tef1* (EF1-728F и EF1-986R). Программа амплификации: 94°C (1 мин.), 30 циклов, состоящих из денатурации при 94°C (30 сек.), отжига праймеров при соответствующей для них температуре 30 сек., элонгации 72°C (70 сек.); финальной элонгации при 72°C (5 мин.). В каждый эксперимент включали

отрицательный (вода, свободная от ДНК и РНК) и положительный (известная ДНК, дающая ампликон определенного размера) контроли. После проведения реакции длину и чистоту ПЦР-продуктов контролировали с помощью электрофореза в 1% агарозном геле с добавлением бромистого этидия. После электрофоретического разделения кусочек геля, содержащий ампликон нужного размера, вырезали стерильным скальпелем из геля и помещали в микропробирку. Далее следовали инструкциям, указанным в описании набора для выделения ДНК из геля *CleanUp Standart* (ЗАО «Евроген», Россия). Секвенирование ДНК проводилось по методу Сэнгера в компании «Евроген». Полученные последовательности сравнивались с последовательностями из базы NCBI GenBank. Анализ последовательностей ДНК проводили с помощью программы *Mega 6.0*.

Для оценки патогенности штаммов использовали небольшие клубни картофеля (диаметром около 40 мм) и зеленые плоды томата Черри. После стерилизации поверхности клубни и плоды нарезали на ломтики толщиной около 7 мм и помещали во влажную камеру. Заражение проводили блоком агара с мицелием гриба. В контроле на ломтик клубня помещали стерильный агаровый блок. Инокулированные ломтики клубней помещали во влажные камеры и держали в термостате при температуре 22°C. Учет диаметров повреждения проводили через 7-20 дней в зависимости от вида тестируемого гриба.

Тестирование на восприимчивость к фунгицидам проводили *in vitro* на питательных средах в чашках Петри. Препарат добавляли в среду (PDA) для получения конечной концентрации по действующему веществу 0,1, 1, 10, 100 мг/л; изучали фунгициды тиabendазол (препарат Имикар, КС) и дифеноконазол (Скор, КЭ). В качестве контроля использовали среду без фунгицида. В препарат Имикар, кроме тиabendазола, входит инсектицид имидаклоприд, который не оказывает влияния на рост грибов. Агаровый блок с мицелием изучаемого штамма помещали в центр чашки Петри со средой. В момент, когда диаметр колонии на контроле составлял 60-80% от диаметра чашки, производили замеры диаметров колоний, на основании которых рассчитывали показатель EC50 (концентрация фунгицида, ограничивающая радиальный прирост колонии в 2 раза относительно контроля).

Результаты и обсуждение

При анализе штаммов, выделенных с пораженных клубней картофеля, были выявлены штаммы следующих видов грибов: *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. graminearum*, *F. equiseti*, *Penicillium sp.*, *Colletotrichum coccodes*, *Remotididymella destructiva*, *Helminthosporium solani*, *Alternaria linariae*, *Microdochium sp.*, *Trichoderma sp.* Из плодов томата были выделены штаммы *Fusarium equiseti*, *F. graminearum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria alternata*.

Тестирование патогенности выявило сильные межштаммовые различия (табл. 1). Все проанализированные виды грибов (за исключением выделенного с томата *F. oxysporum*) значительно лучше развивались на ломти-

ке плода томата. Преобладающие на плодах томата *F. incarnatum-equiseti*, как и преобладающие на картофеле *F. oxysporum*, лучше заражали ломтики плодов томата. Два штамма *Cladosporium cladosporioides* вели себя по разному - один из них не заражал ломтики, второй заражал достаточ-

но активно. Штамм *Epicoccum nigrum* не заражал ломтики клубней и плодов.

* - данные приведены в виде: минимальное значение – максимальное значение (среднее)?

** - нет данных.

Таблица 1. Оценка патогенности штаммов грибов

Вид или комплекс патогена	кол-во видов	протестированных штаммов	Культура	Диаметр заражения, мм	
				Ломтик клубня	Ломтик плода томата
<i>F. incarnatum-equiseti</i>	7		Томат	5,7-12 (13,8)*	12-28 (17,7)
<i>F. oxysporum</i>	1		Томат	23,3	5,2
<i>Epicoccum nigrum</i>	1		Томат	0	0
<i>Alternaria alternata</i>	1		Томат	9,7	13
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2		Томат	0-9	1-11
<i>F. oxysporum</i>	16		Картофель	6-23 (11,9)	10-22 (18,6)
<i>Alternaria linariae</i>	2		Картофель	4,5-7,7	9,5-14
<i>F. solani</i>	2		Картофель	6,7-15,1	14-20,7
<i>F. incarnatum-equiseti</i>	3		Картофель	4,8-10,7 (7,7)	7,5-14 (10,7)
<i>F. graminearum</i>	2		Картофель	5,7-35,3	5,8-32
<i>Colletotrichum coccodes</i>	4		Картофель	5-9,5 (6,9)	7,5
<i>Helminthosporium solani</i>	1		Картофель	5,7	—**
<i>Remotididymella destructiva</i>	1		Картофель	4	—

Эксперимент по оценке восприимчивости тестируемых штаммов (табл. 2) показал, что практически все протестированные штаммы обладали высокой восприимчивостью к дифеноконазолу ($EC_{50} < 1$ мг/л). Повышенная устойчивость ($EC_{50} = 8,5$ мг/л) была выявлена у штамма из комплекса *F. graminearum*. Устойчивость к тиабендазолу была в целом существенно выше, чем к дифеноконазолу. У всех штаммов, за исключением одного штамма *A. linariae*, показатель EC_{50} находился в диапазоне 0,67-5,1. Подобные

уровни устойчивости позволяют уверенно контролировать патогенов разрешенными дозами тиабендазола и дифеноконазола. В то же время был отмечен единственный устойчивый штамм вида *A. linariae*. Необходима дальнейшая работа по изучению долей устойчивых штаммов в популяциях, так как в случае применения тиабендазола доля таких штаммов в полевых популяциях может резко возрасти и содержащие этот фунгицид препараты потеряют эффективность.

Таблица 2. Восприимчивость штаммов грибов к фунгицидам.

Вид или видовой комплекс	Штамм	Растение-хозяин	Восприимчивость к фунгицидам, EC_{50}	
			Дифено-коназол	Тиабенда-зол
<i>Fusarium oxysporum</i>	AB20PT242	Картофель	0,33	5,1
<i>F. oxysporum</i>	20UgPT4/1	Картофель	0,48	3
<i>F. oxysporum</i>	AB20PT200	Картофель	0,87	4,17
<i>F. oxysporum</i>	AB20PT206	Картофель	0,79	4,32
<i>F. oxysporum</i>	20UgPT5	Картофель	0,38	3,7
<i>F. oxysporum</i>	20UgKgPT1/3	Картофель	0,42	2,63
<i>F. oxysporum</i>	20UgKgPT3	Картофель	0,88	3,8
<i>F. solani</i>	AB20PT197	Картофель	0,15	4,82
<i>F. incarnatum-equiseti</i>	20UgMbPT2/2	Картофель	0,23	0,67
<i>F. graminearum</i>	20UgLaPT2/1-1	Картофель	8,50	2,78
<i>Alternaria linariae</i>	20UgMbPT2/1	Картофель	1,00	>100
<i>F. oxysporum</i>	UgLaTF4	Томат	0,51	0,85
<i>F. incarnatum-equiseti</i>	UgLaTF1	Томат	0,92	0,77

В результате проведенной работы выявлен ряд видов грибов, ассоциированных с клубнями картофеля и плодами томата. Как показал тест на патогенность, большинство выявленных видов являются патогенными для растений,

причем большинство штаммов может поражать как картофель, так и томат. Тест на восприимчивость к фунгицидам показал присутствие изолята *A. linariae*, обладающего вы-

сокой устойчивостью к популярному фунгициду тиабендазол.

В заключении необходимо отметить, что видовое разнообразие грибов, поражающих клубни картофеля и плоды томата, слабо изучено в тропической зоне и не учитывается при разработке систем защитных мероприятий. В то же время известно, что разные виды грибов различаются по патогенности и восприимчивости к фунгицидам (Побединская и др., 2012). В связи с этим проведение работы по

изучению фитопатогенной и ассоциированной микобиоты картофеля и томата актуально и должно быть продолжено.

Работа выполнена при поддержке Программы научных грантов РУДН (тема 202193-2-174).

М.А. Побединская, П.Н. Плуталов, С.С. Романова, Л.Ю. Кокаева, А.В. Николаев, А.В. Александрова, С.Н. Еланский Устойчивость возбудителей альтернариоза картофеля и томата к фунгицидам // Микология и фитопатология. 2012. Т. 46(6). С. 401-408.

АГРЕССИВНОСТЬ ГРИБОВ Р. FUSARIUM, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ ПАТОКОМПЛЕКСА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ CUCUMISMELOL

Енгальчева И.А., Козарь Е.Г., Корнилова М.С., Масленникова Е.С.
ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» (ФНЦО), Московская область

В настоящее время фузариоз, возбудителями которого являются грибы рода *Fusarium* spp., выходит на первый план среди наиболее вредоносных болезней грибной этиологии на культуре дыни (*Cucumis melo*). Эта болезнь наносит серьезный ущерб во всех странах мира, где возделывается эта культура. По обобщенным данным в 2020 году отмечены сильные эпифитотии фузариоза дыни в Иране, Японии, Италии, Испании, США, повлекшие потери урожая до 80% [1]. В последние годы многими исследователями отмечается совместное поражение грибами *Fusarium* spp. с другими вредоносными возбудителями, в частности антракноза (грибами рода *Colletotrichum*), приводя к серьезному экономическому ущербу [2,3].

Среди множества факторов, влияющих на заражение фитопатогенами в полевых условиях, существенная роль принадлежит сложным взаимодействиям патогенного комплекса внутри агробиоценоза, изменяя ареал их распространения. По данным отечественных и зарубежных коллег, развитие болезни подвержено ежегодным колебаниям в зависимости от меняющихся погодных условий, сортимента выращиваемых сортов с различным уровнем устойчивости, видового состава возбудителей [4,5]. Это выражается в проявлении не всегда типичных симптомов, характерных для каждого заболевания, в изменении интенсивности поражения посевов дыни [6,7].

В России данные по современному составу фитопатогенного комплекса на культуре дыни практически отсутствуют. В связи с этим, в лаборатории иммунитета ФГБНУ ФНЦО начата работа по изучению патоконспекса возбудителей наиболее вредоносных болезней на культуре дыни в условиях степной зоны Волгоградской области.

Материал и методы. Исследования проводили на базе лаборатории иммунитета и защиты растений ФГБНУ ФНЦО и Быковской бахчевой овощной опытной станции (ББОУС) - филиала ФНЦО. Материал исследований – пораженные органы растений, изоляты микромицетов. В исследованиях применяли методы фитомониторинга с фоторегистрацией симптомов и микроскопированием нативного материала. Методы выделения микромицетов в чистую культуру (влажная камера, посев на питательные среды, получение моноспоровых чистых культур). Методы исследования макро- и микроморфологических культуральных признаков изолятов (диаметр колонии, скорость роста, цвет и структура колонии; габитус споруляции, размер и форма конидий).

Оценку вирулентности и агрессивности 44 изолятов грибов, выделенных из пораженных растений, проводили

в двух сериях независимых опытов на культурах дыни (3 сорта), тыквы (1 сорт) и арбуза (1 сорт) с использованием различных вариантов заражения дисков плодов (мицелиальной суспензией и мицелиально-агаровыми блоками). Для заражения использовали семисуточные чистые культуры микромицетов на среде Чапека. Повторность – четырехкратная. Учеты проводили на седьмые сутки после заражения, измеряли диаметр, глубину и объем зоны поражения (мм³), по которому судили о степени агрессивности изолятов грибов и дифференцировали их на три группы:

слабоагрессивные – поражено 5-35 % поверхности диска;

среднеагрессивные - поражено 36-65 % поверхности диска;

сильноагрессивные - поражено 66-100 % поверхности диска.

Результаты. При обследовании различных питомников ББОУС ФНЦО, на растениях дыни были выявлены различные типы поражения листьев, стеблей, плодов. В условиях 2021 года наиболее распространенными были симптомы в виде различных типов пятнистостей, увядания и усыхания отдельных частей растений. Кроме того, отмечены нетипичные симптомы на пораженных органах при совместном заражении растений дыни возбудителями антракноза и фузариоза. В результате смешанной инфекции происходило одревеснение плодоножки и постепенное высыхание плети, на которой образовывались мелкие сморщенные плоды с темно-фиолетовой полусухой гнилью. Суммарно из разных пораженных органов (листья и плоды) было выделено 44 изолята микромицетов, в составе которых доминировали грибы рода *Fusarium* spp, в том числе и с плодов с характерными симптомами антракноза.

Лабораторная оценка степени патогенности и агрессивности полученных изолятов выявила существенные их различия. Основная доля выделенных изолятов оказалась слабоагрессивной по отношению к культуре дыни: либо вовсе не заражали культуру, либо объем зоны поражения при искусственной инокуляции плодов не превышал 25% (рис.1). Процент средне- и сильноагрессивных изолятов оказался сопоставим и составил 12 и 18% соответственно. Причем при заражении мицелиально-агаровыми блоками большинство

микромицетов из рода *Fusarium*, входящих в группу сильноагрессивных изолятов, вызывали развитие сухой пятнистости или мокрой гнили на плодах всех тестируемых растений уже на 3 сутки, что, по-видимому, обуслов-

лено присутствием в питательной среде микотоксинов, которые способны продуцировать грибы этой группы.

Среди слабовирулентных изолятов в отношении растения-хозяина, девять проявили высокую агрессивность в

отношении других видов семейства Cucurbitaceae (таблица).

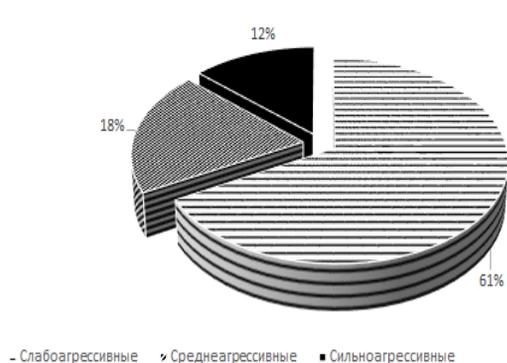


Рис.1. Распределение выделенных изолятов микромицетов по степени агрессивности

№ чистой культуры	Шифр чистой культуры	Степень агрессивности изолятов		
		<i>Cucumis melo</i>	<i>Cucurbita maxima</i>	<i>Citrullus lanatus</i>
49	Дн-В-21-22-2-2	*	***	-
38	Дн-В-21-25-2-2	*	***	*
27	Дн-В-21-6-1-1-1	*	***	*
56	Дн-В-21-6-2-1-1	*	***	**
57	Дн-В-21-6-2-1-2	*	***	***
52	Дн-В-21-13-1-2	*	**	***
47	Дн-В-21-15-1-4-2	*	*	***
53	Дн-В-21-13-1-3	*	-	***
63	Дн-В-21-15-3-3	*	-	***

Примечание: * слабоагрессивные; ** среднеагрессивные; *** сильноагрессивные

Причем часть из них поражала только одну из испытанных культур, другая часть – и арбуз, и тыкву. Так, изоляты №27, №49 и №38 проявили высокую активность в отношении культуры тыквы, три других изолята (№47, №53, № 63) – в отношении арбуза. Изоляты №56, № 57 и №52 проявили высокую агрессивность в отношении обеих тыквенных культур.

При дальнейшем изучении изолятов установлена различная специфичность в отношении поражаемых ими органов растений дыни. Так, изоляты №27 и № 56, слабо поражая плоды дыни, заражали в значительной степени вегетативную часть, вызывая трахеомикозное увядание сеянцев на 14 сутки (рис.2).

Тогда как при заражении шестью испытанными средне- и сильноагрессивными изолятами в отношении плодов, симптомов поражения на сеянцах не отмечено, а некоторые из них даже стимулировали рост надземной части растений.

Таким образом, в результате проведенного фитопатологического исследования собрана коллекция изолятов микромицетов рода *Fusarium* с различной степенью агрессивности в отношении дыни и других культур семейства Cucurbitaceae (арбуз, тыква). Выявленная нарастающая перекрестная агрессивность ряда изолятов, поражающих растения различных видов, актуализирует проблему использования и необходимость корректировки трехпольной схемы севооборота, часто используемой в отрасли бахчеводства. Выделенные наиболее агрессивные изоляты



Рис. 2. Увядание сеянца при заражении изолятом №27.

возбудителей фузариоза включены в коллекцию лаборатории иммунитета и защиты растений ФГБНУ ФНЦО для проведения иммунологической оценки на устойчивость коллекционных и селекционных образцов дыни и других тыквенных культур к фузариозу на разных стадиях развития.

Список литературы

1. Zink F. W., and Gubler W. D. Inheritance of resistance in muskmelon to *Fusarium* wilt. J. Am. Soc. Hort. Sci. -2021.1-10:600-604.

- Herman R., Perl-Treves R. Characterization and Inheritance of a New Source of Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* Race 1.2 in *Cucumis melo*. - Plant Disease. - 2007. 91(9):1180-1186.
- Danin-Poleg Y., Burger, Y., Schreiber S., Katzir, N., Cohen R. Identification of the gene for resistance to *Fusarium wilt* races 0 and 2 in *Cucumis melo* Dulce. *Cucurb. Genet. Coop. Rep.* 2005. - 22:19-20.
- Зеленева Ю.В., Афанасенко О.С., Судникова В.П.
- Влияние агроклиматических условий, жизненной формы и вида хозяина на видовой комплекс возбудителей септориоза пшеницы
- Поволжский экологический журнал. - 2020. - № 2. - С. 177-190.
- Torriani D. S., Calanca P., Beniston M., Fuhrer J. Hedging with weather derivatives to cope with climate variability and change in grain maize production. *Agricultural Finance Review.* 2018. - 67-81.
- Gan, P., Ikeda, K., Irieda, H., Narusaka, M., O'Connell, R.J., Narusaka, Y. et al. Comparative genomic and transcriptomic analyses reveal the hemibiotrophic stage shift of *Colletotrichum* fungi. *New Phytologist.* - 2013. - 197. - 1236-1249.
- Gerchikov, N., Keren-Keiserman, A., Perl-Treves, R., & Ginzberg, I. Wounding of melon fruits as a model system to study rind netting. *Scientia Horticulturae.* - 2008. - 117(2). - 115-122.

ДЕЙСТВИЕ СОВРЕМЕННЫХ ФУНГИЦИДОВ НА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КОРНЕВОЙ ГНИЛИ ПШЕНИЦЫ

Гришечкина Л.Д.

ФГБНУ «Всероссийский институт защиты растений», Санкт-Петербург-Пушкин

Сложная структура патогенных комплексов, вызывающих корневую гниль пшеницы представлена разными микромицетами, в основном грибами: *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium spp.*, *Rhizoctonia* и др. Состав патогенов варьирует в зависимости от зоны и технологии возделывания пшеницы, предшественника, насыщенности севооборота зерновыми культурами и ряда других причин. Потери урожая культуры от этих возбудителей заболевания могут достигать до 30% и более.

Основными источниками инфекций корневой гнили в большинстве зон возделывания пшеницы служат зараженные семена, инфицированная почва и растительные остатки. Предпосевная обработка семенного материала обеспечивает наилучшую защиту культуру от возбудителей. Рекомендованные фунгициды активно подавляют развитие возбудителей корневой гнили и их эффективность определяется химическим классом, спектром действия, проникающей способностью активного вещества и т.д. Использование узко специализированных фунгицидов в системах защитных мероприятий приводит к накоплению определенных фитопатогенных грибов и даже их ротации на другие возможно более опасные виды. Доказано, что карбоксин (Витавакс, СП) при высокой эффективности в борьбе с возбудителем гельминтоспоризной корневой гнили способствовал накоплению грибов рода *Fusarium*, в то время как использование беномила (Фундазол, СП) и карбендазима (БМК, СП) - освобожденную экологическую нишу от фузариев занимал *B. sorokiniana*.

Комбинации действующих веществ разной фунгицидной направленности позволяют подавлять в равной степени сопряженную инфекцию. Важно чтобы средства защиты были экологически безопасны или оказывали щадящее действие на полезные компоненты агроценоза. Это позволяет сохранить в ризосфере и планосфере защищаемого растения антагонистов, симбионтов и конкурентные виды патогенов. Некоторые фунгициды при обработке семян стимулируют размножение симбиотрофных микроорганизмов, обеспечивая, таким образом, биологический буфер в отношении фитопатогенов (Рудаков и др., 2001; Евсеев, 2004).

За последние годы появились химические препараты, гарантирующие высокий фунгицидный эффект в борьбе корневую гнилью пшеницы разной этиологии при различ-

ных технологиях ее возделывания. Высокая эффективность комбинированных препаратов, число которых возросло почти в два раза, в борьбе с комплексной инфекцией подтверждена многолетними исследованиями, проведенными в разных почвенно-климатических зонах страны. С включением в состав препаратов металаксилы и мефеноксама (Дивиденд экстрим, КС; Сертикор, КС и Бенефис, МЭ) повысилась эффективность борьбы с низшими грибоподобными организмами на пшенице.

Был выявлен ряд эффективных препаратов в борьбе с корневой гнилью на пшенице не только фузариозно-гельминтоспоризной, но ризоктониозной этиологии на основе пенцикурона (Престиж, КС) и флудиоксонилы (Максим, КС) только на картофеле и азоксистробина зарубежными исследователями [Sriraj et al., 2014; Kumari et al., 2015]. В последние годы появились препараты, содержащие седаксан, действующего на грибы рода *Rhizoctonia* [Crummett, 2011; Zeun et al., 2013]. Это активное вещество из химического класса пиразолкарбоксамиды содержится в составе препаратов Вайбранс Интеграл, КС и Вайбранс Трио, КС. Системными свойствами и характерный широкий спектр фунгицидной активности в отношении возбудителей головни (*Tilletia caries*, *Ustilago nuda*), пиренофороза (*Pyrenophora graminis*), ризоктониозной прикорневой гнили (*Rhizoctonia cerealis*, *R. solani*), тифулезной снежной плесени (*Typhula incarnata*) обеспечил препаратам высокий эффект защиты от комплексной инфекции. Это было подтверждено нами при изучении 4-х компонентного препарата на основе тиаметоксама, седаксана, флудиоксонилы и тебуконазола Вайбранс Интеграл, КС в борьбе с возбудителями сопряженной инфекции на пшенице [Гришечкина, Силаев, 2018] и одновременно ограничивающих жизнедеятельность вредных членистоногих.

В дальнейшем было показано, что использование 3-х компонентного препарата Вайбранс Трио, КС, содержащего седаксан, флудиоксонил и тебуконазол, при предпосевной обработке семян пшеницы озимой было весьма результативным в борьбе со снежной плесенью тифулезной этиологии и ризоктониозной прикорневой гнилью. В Ленинградской области на сорте Московская 56 на фоне сильного поражения посевов тифулезной снежной плесенью выпадения растений на контрольных делянках достигали 76,8%, предпосевная обработка семян пшеницы изучаемым

препаратом сдерживала развитие болезни на 56,0-65,1% в равной степени, как и в случае применения эталона Винцит Форте, КС (58,6%).

В Краснодарском крае на пшенице озимой сорта Краснодарская 99 патогенный комплекс корневой гнили был представлен возбудителями преимущественно фузариозной природы и, в меньшей степени - ризоктониозной. Эффективность препарата весной в фазу кущения варьировало от 73,3-90,5% и была близкой по эффективности эталону (81,0%). К фазе развития растений Z 82-90 эффективность снизилась до 45,5-50,0% в варианте с испытываемым препаратом и эталоном до 48,5% при развитии болезни в контроле 10,5-33,0%. Опыты показали, что обработка семенного материала способствовала повышению зимостойкости культуры. Так, количество перезимовавших растений составило 98,4-100%, в варианте с эталоном (Винцит Форте, КС) - 88,4%, в то время как на контрольных делянках процент перезимовавших растений не превышал 31,4%.

Препарат оказывал положительное действие на защищаемое растение: повышал энергию прорастания, всхожесть семян, густоту стояния растений, а также обеспечивал увеличение продуктивности культуры.

Обработка семян эффективными фунгицидами снижает потери, наносимых вредными организмами и прежде всего в наиболее уязвимый период развития растений как прорастание семян – всходы. Современные фунгициды проявляют достаточно высокую эффективность в борьбе с разного рода патологий растений, вызываемых возбудителями головни и корневой гнили: грибами рода *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Rhizoctonia* и т.д. Комбинированные препараты обеспечивают наибольшую эффективность против комплекса возбудителей заболеваний.

ПАТОГЕННАЯ МИКОБИОТА РАСТЕНИЙ ЛЮЦЕРНЫ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В КОРМОВОДСТВЕ

Гасанова В. Я.

Институт Микробиологии НАНА, Баку, Азербайджан

Начиная с конца XX века, увеличение численности населения планеты привело к возникновению ряда дефицитов всех энергетических ресурсов, продуктов питания, в том числе сырья, характерного для различных промышленных отраслей [9]. К сожалению, масштабы проблемы продолжают постоянно увеличиваться, и это в той или иной степени начинает ощущаться во всем мире. Именно устранение этих проблем, безусловно, уточняет задачи, стоящие перед современной наукой, особенно биологией, при этом обеспечение населения земного шара продукцией сельского хозяйства, а также продукцией животноводства путем проведения исследований в этом направлении остается в центре внимания [4].

Известно, что кормовые растения имеют большое значение в сельском хозяйстве. Эти растения играют важную роль в развитии животноводства [8], повышении продуктивности и укреплении кормовой базы. Потому что при производстве продуктов животного происхождения их качество во многом зависит от потребляемых кормов. Кормовые растения составляют основную часть кормового рациона животных, выращиваемых на пищевые продукты [7]. По этой причине люцерна является одним из наиболее продуктивных кормовых растений, широко распространенных в сельском хозяйстве. Люцерновый белок увеличивает содержание белка в молоке и удой у животных, улучшая пищеварение и жвачку у животных. Именно поэтому

Список литературы

1. Рудаков О.Л., Савченко Л.Ф., Михалева С.Н. Эффективные протравители семян, щадящие полезную микрофлору /Агро XXI. – 2001. – № 9. – С. 6-7.
2. В.В. Евсеев. Действие протравителей семян на микрофлору почвы и растений /Защита и карантин растений. – 2004. – №5. – С. 49-50.
3. Sriraj P.P., Sundravada S., Adhipathi and D. Alice Efficacy of fungicides, botanicals and bioagents against *Rhizoctonia solani* inciting leaf blight on turmeric (*Curcuma longa* L.) /African J. of Microbiology research. –2014. Doi: 5897/ MR2013.6315
4. Kumari A., Kumar J., Shakil N.A, Kamil D. Bio-efficacy evaluation of CR formulations of Azoxystrobin against *Rhizoctonia solani* /Ann.Pl. Protect Sci 2015, 23 (1), P. 124-126.
5. Crummett D. New fungicide is developed to take down rhizoctonia 2011. www. farmprgress. Com – september. 2011.
6. Zeun R., Scallied G., Oostendorp M. Biological activity of sedaxane – a novel broad-spectrum fungicide of seed treatment // Pest Manag Sci. 2013. V. 69. P. 527–534.\
7. Гришечкина, Л.Д., Силаев А.И. Вайбранс интеграл, КС-новый фунгицид для защиты пшеницы от семенной и почвенной инфекции / Сб. матер. междунар. научно-практич. конференции “Современные технологии и средства защиты растений - платформа для инновационного освоения в АПК России”. – С-Пб-Пушкин. – 2018. – С.60-61.

это растение является не только кормовым для животных, но и имеет лечебное значение.

Известно также, что при непрерывном возделывании одной и той же площади в течение нескольких лет снижается как плодородие, так и продуктивность этих почв, а также вызывает изменение структуры почвы. Именно клубеньковые бактерии (*Rhizobium*) на корнях этого растения обогащают почву азотом, используя свободный азот воздуха, улучшают ее структуру, повышают ее плодородие, предотвращают эрозию и засоление почвы, регулируют некоторые агробиологические процессы. При последующем возделывании других сельскохозяйственных культур на полях, где выращивается люцерна, урожайность увеличивается на 60-70%.

Как известно, помимо высокой продуктивности, из растения люцерны получают качественную сухую траву, силос, травяную муку, брикеты и другие виды кормов. Это растение является источником пищи не только для животных, но и для микроорганизмов и грибов. В результате между этим растением и грибами формируются различные взаимоотношения, одним из которых являются патологии, вызываемые грибами у растений [6]. По этой причине одним из важных вопросов является то, что в кормопроизводстве в нашей стране не всегда достигаются желаемые результаты. Так, ущерб, наносимый кормовым растениям различными болезнями, ежегодно распространяющимися в сельском хозяйстве, приводит к потере их продуктивно-

сти на миллионы тонн, то есть на 30-35%. В связи с этим изучение патогенной микобиоты люцерны, используемой в кормоводстве, явилось основной целью исследований.

В качестве область исследования были взяты фермерские хозяйства и приусадебные участки, расположенные в Билясуварском и Саатлинском районах. В этих районах выращивают различные сорта люцерны. В качестве объекта исследования был выбран растения клевера лугового (*Trifolium pratense* L.). Исследования проводились известными методами. При выращивании чистых культур грибов использовали такие питательные среды, как сабуро, сусло-агар, чапек. В ходе исследования в питательную среду добавляли 100 мг/л стрептомицина для подавления роста бактерий. Идентификация грибов проводилась на основе известных определителей, составленных на основе их культурально-морфологических и физиологических характеристик [1-3, 5].

В результате проведенных исследований на клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) изучено 20 видов грибов. Установлено, что 11 из этих 20 видов грибов обладают токсическим действием. Эти грибы в основном относятся к следующим родам микромицетов: *Ascochyta*, *Gloesporium*, *Pseudopeziza*, *Whetzelinia*, *Uromyces*, *Erysiphe*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Colletotrichum*. Особенно токсическим действием обладают следующие виды указанных родов грибов: *Alternaria solani*, *Ascochyta hordei*, *Ascochyta pisi*, *Ascochyta trifolii*, *Colletotrichum trifolii*, *Erysiphe communis*, *Fusarium oxysporum*, *Gloesporium caulivorum*, *Pseudopeziza trifolii*, *Uromyces trifolii*, *Whetzelinia trifoliorum*.

Среди грибов, полученных в ходе исследований, около половины всей микобиоты нарушает физиологические процессы растений, разрушает их зеленую массу, снижает продуктивность и т. д. являются фитопатогенами, вызывающими антракноз, аскохитоз, фузариоз, бурую пятнистость, ржавчину, мучнистую росу, рак и другие болезни растений.

В ходе исследования следует также отметить, что обнаружение на растении тех, кто обладает токсичным действием среди грибов нежелательно. Некоторые их метаболиты, особенно синтезируемые ими токсины, опасны не только для растений. Отсутствие нормативных документов, регламентирующих разрешенное количество микотоксинов в Азербайджане, приводит к широкому распространению этих токсинов в таких сферах, как кормопроизводство, повышение плодородия почвы, улучшение структуры почвы. Это показывает, что важно принять срочные меры для предотвращения этих существующих дефектов.

Таким образом, проведенные исследования показали, что клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) используемый в кормоводство характеризуется богатой и разнообразной микобиотой. Выявленная микобиота также включает множество токсикогенных грибов, метаболиты которых опасны не только для растения-хозяина, но и для человека и животных. По этой причине снизить уровень потерь в кормопроизводстве можно путем изучения патогенной микобиоты сельскохозяйственно значимого сорта клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) и обладания информацией о видовом составе, распространении и влиянии этих фитопатогенных грибов на продуктивность, а также внедрением меры борьбы с ними.

Список литературы

1. В. А. Павлюшина. Болезни культурных растений. / Под общей редакцией. СПб, 2005, 288 с.
2. Саттон Д., Фотергилл А., Риналди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М.: Мир, 2001, 486с.
3. Семенкова И.Г., Соколова Э.С. Фитопатология. М.: Академия, 2003, 479с.
4. Юсифова А.А. Общая характеристика фитопатогенных грибов, встречающихся на некоторых кормовых растениях Азербайджана. // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. №1, 2021 г, с. 42-46
5. Хохряков М.К., Доброзракова Т. Л., Степанов К.М., Летова М.Ф. Определитель болезней растений. СПб: Лань, 2003, 592 с
6. Archana J., Surendra S., Qin W., Yuanfu L. & Jingshan Sh. A review of plant leaf fungal diseases and its environment speciation. // Bioengineered, 2019, 10:1, p. 409-424
7. Lawrence P.R., Meghan C. W-R., Debra K. A., Teresa A. D. Importance of Animals in Agricultural Sustainability and Food Security. // The Journal of Nutrition, 2015, v. 145, is. 7, p.1377-1379.
8. Ma Y., Luo B., Zhu Q. et al. Changes in traditional ecological knowledge of forage plants in immigrant villages of Ningxia, China. // J Ethnobiology Ethnomedicine, 2019, 15, 65. <https://doi.org/10.1186/s13002-019-0333-0>
9. Owusu P.A., & Asumadu-Sarkodie S. A review of renewable energy sources, sustainability issues and climate change mitigation. // Cogent Engineering, 2016, 3(1), 1167990. <https://doi.org/10.1080/23311916.2016.1167990>

ПРИЗНАКИ ЗАБОЛЕВАНИЯ ФУЗАРИОЗОМ И ВРЕД УРОЖАЮ ЗЕРНА В ПЕРИОД СОЗРЕВАНИЯ ПШЕНИЦЫ (В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН)

Хайтбаева Н. С. Хасанов Б.А., Бобабеков К.Б.

Ташкентский государственный аграрный университет
кафедра “Сельскохозяйственной фитопатологии и агробиотехнологии”

Научно-исследовательский институт по карантину и защите растений

Введение

Перед периодом созревания пшеницы формирование зерна начинается после оплодотворения яйцеклетки в узле пшеницы. В это время питательные вещества переходят от листьев и стебля к формирующемуся зерну. В зерне образуются зародыш, эндосперм и другие части. Нормальная длина достигается через 10-16 дней, и на этом формирование зерна завершается. Влажность зерна составляет 80-82%,

затем начинается налив зерна, зерно утолщается, увеличивается его толщина и ширина, окраска вместо зеленой начинает становиться желтой, содержание воды снижается до 38-42%. До этих показателей важным биологическим признаком считается сокращение влаги, в это время происходит необратимое затвердевание коллоидов, после чего прохождение питательных веществ к зерну прекращается, и пшеница достигает конца вегетации. Однако при полном продолжении этого биологического процесса, на каждой

фазе развития пшеницы, патогенные микроорганизмы приводят к нарушению физиологических процессов. Патогенные микроорганизмы в основном сохраняются в почве, растительных остатках и семенном зерне. Они оказывают негативное влияние на биологические и физиологические процессы растений в течение всего вегетационного периода. В ходе исследований изучались случаи заражения пшеницы фузариозом до периода созревания, симптомы и влияние болезни на зерно.

Методы исследования:

В период расширения международных отношений Республики по семеноводству, а также в целях районирования новых сортов, в планировании мероприятий большое значение имеет проведение фитопатологической экспертизы качества семян.

Для выделения грибов из разных семян применяется биологический метод. При биологическом методе создаются благоприятные условия для развития микроорганизмов на поверхности семени или внутри него. Для этого исследуемые семена высевают во влажную камеру или чашки Петри с питательной средой, с очисткой или без очистки от внешней инфекции. По образовавшейся грибной колонии определяется их систематическое положение.

Для выделения грибов из частей растений важно правильно применять специальные методы. Для очистки семян от внешней микрофлоры также можно использовать раствор сулемы в соотношении 1:1000, а также раствор формалина в соотношении 1:300 (в течение 30 минут), воду с 1% бромом (несколько секунд), раствор калия с 2% марганцем (в течение 15 минут).

Семена рекомендуется выдержать в течение указанного срока в приготовленном растворе, а затем несколько раз промыть стерилизованной водой. Когда очистка семян от внешней инфекции неэффективна, для стерилизации исследуемых семян рекомендуется использовать метод прокаливания денатуратом или техническим спиртом. Чтобы выделяемые грибы были очищены от бактерий использовались антибиотики (стрептомицин) (Гагкаева, 2011).

Для выделения грибов использовались подготовленные в чашках Петри «влажные камеры». Для этого кружки фильтровальной бумаги помещают в стерилизованные чашки Петри при 1210С под давлением 1 атм и замачивают в стерилизованной воде. Семена помещались во влажные камеры в чашки Петри и хранились в эксикаторах. Температура в термостате не должна превышать 27-300С, влажность должна быть 70-80%. Рост и развитие растущих в нем грибов начались через 2-3 дня при наблюдении в небольшом объективе микроскопа. Отдельные фрагменты фор-

Рисунки

Внешние признаки поражения растения фузариозом (2022г)



Рис. 1. Слева - корень здорового растения, справа - корень, пораженный фузариозом



Рис. 2. Слева- стебель здорового растения, справа- стебли, пораженные фузариозом.



Рис. 3. Слева- колос здорового растения, справа- колос, пораженный фузариозом

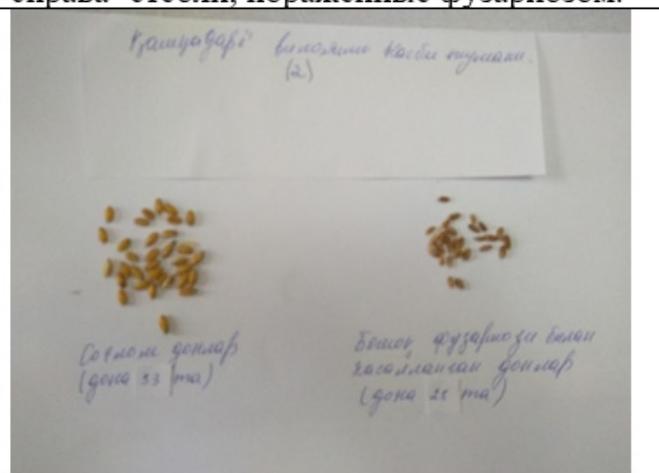


Рис. 4. Слева- количество зерен в одном колосе здорового растения, справа- количество зерен в одном колосе растения, пораженного фузариозом



Рис. 5. Проявление фузариоза в полевых условиях перед периодом созревания пшеницы



Рис. 6. Уменьшение колосьев, зараженных фузариозом, перед периодом созревания пшеницы

мирующего грибкового мицелия, конидий высевают на агаризованную питательную среду в пробирку с помощью микробиологической петли.

Наиболее эффективным методом выделения грибов, паразитирующих внутри семян растений, является использование влажных камер.

Результаты исследования:

Фузариоз пшеницы находится в состоянии, подобном состоянию созревшей пшеницы перед периодом созревания. Но при внимательном наблюдении за пшеницей в поле, можно увидеть, что пшеница пожелтела и засохла,

узлы темно-коричневые и сломаны, а образовавшиеся колосья дали очень мало зерна. Это состояние особенно заметно, когда период молочной спелости пшеницы составляет 1 месяц до окончания вегетации пшеницы. Пшеница, зараженная фузариозом, не имеет фазы кушения, образуя один или два колоса на растении (рисунки).

Приведенные на снимках случаи установлены в южных регионах Республики, а именно на пшеничных полях фермерских хозяйств Касбинского, Яккабагского, Шахрисабзского районов Кашкадарьинской области.

Таблица 1

Поражение фузариозом урожая пшеницы (сорт пшеницы "Гром", 2021-2022 гг.)

№	Колосья (шт)	Количество зерен в здоровом колосе	Количество зерен в колосе, который поражен фузариозом
1	1-й колос	54	27
2	2-й колос	50	32
3	3-й колос	48	28
4	4-й колос	51	21
5	5-й колос	52	24
6	6-й колос	52	26
7	7-й колос	49	36
8	8-й колос	47	32
9	9-й колос	48	22
10	10-й колос	51	29
	Всего	502	277

Как видно из данных таблицы, урожайность зерна может снижаться до 55% из-за фузариозного заболевания пшеницы. В данном исследовании образцы сильно зараженных растений и здоровых растений пшеницы взяты с пшеничных полей фермерских хозяйств Касбинского, Як-

кабагского, Шахрисабзского районов Кашкадарьинской области. При подсчете зерен в колосьях здоровой и пораженной фузариозом пшеницы установлено, что в 10 колосьях у здоровых растений всего 502 зерен, а у пшеницы пораженной фузариозом 277 зерен.

Таблица 2
Влияние фузариоза на снижение массы зерна (2021-2022 гг.)

№	Область	Район	Сорт пшеницы	Масса 1000 зерен (взятых из здорового колоса) гр.	Масса 1000 зерен (зерна, пораженные фузариозом) гр.
1	Кашкадарё	Касби	Бунёдкор	42	23
		Яккабаг	Алексеич	44	29
		Шахрисабз	Бобур	41	22,3
		Камаша	Гром	39	26

Как видно из данных, представленных в таблице, масса зерен, зараженных фузариозом, снижается. Масса 1000 зерен, полученных от здорового растения, у сорта Бунёдкор составила 42 грамма, у пораженного растения – 23 грамма. У сорта Алексеич масса 1000 зерен у здорового растения составила 44 грамма, у пораженного растения – 29 грамм, у сорта Бобур масса 1000 зерен у здорового растения – 41 грамм, у пораженного – 22,3 г, у сорта Гром масса 1000 зерен у здорового растения составила 39 гр., у пораженного фузариозом – 26 гр.

Подводя итог, фузариоз пшеницы входит в число опасных заболеваний, приводящий к уменьшению количества всходов начиная с фазы прорастания всходов и до конца вегетации, с уменьшением кущения в фазе кущения, ухудшением растения перед уборкой урожая, пустоколосьем, ухудшением качества колосьев и снижением массы. Для профилактики заболевания хороший эффект дают такие агротехнические мероприятия, как глубокая вспашка земли, введение севооборота, своевременное применение агротехнических мероприятий, посев семян в указанные сроки. В борьбе с фузариозом пшеницы хорошие результаты дает обработка семян протравителями Фундазол, Витавакс, Максим, Селестоп.

Список литературы

1. Указ Президента Республики Узбекистан от 07.02.2017 г. № УП-4947 “О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан”. Собрание законодательства Республики Узбекистан, 2017 г., № 6, ст. 70.
2. Атабаева Х.Н., Худайкулов Ж.Б. “Усимликшунослик”. Издательство “Фан ва технологиялар”, Ташкент: 2018.

3. Атабаева Х.Н., Азизов Б.М. «Бугдай». Монография, Т. ТашГАУ, 2008, с. 10, 5.
4. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К.В. Фузариоз зерновых культур. Приложение к журналу «Защита и карантин растений», 2011, № 5, с. 70-120.
5. Хасанов Б.А. Фузариозный вилт хлопчатника и современные методы идентификации грибов рода *Fusarium*. Монография. Отдел «Тахририят-Нашриёт» ТашГАУ, Ташкент, 2017, 136 с. с ил.
6. Шералиев А., Азимджанов И.М. Фитотоксические свойства грибов рода *Fusarium* Lk. на шелковицу в Узбекис танае (на украинском языке) Микробиологический журнал, XXXIX, в.5, Киев, 1977.
7. Шералиев А. Грибы рода *Fusarium* Link. Et Fr в Узбекистане (Систематика, распространение, биология и экология. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук, Ташкент -2001.
8. Кирай З., Клемент З., Шоймоши Ф., Вереш Й. Методы фитопатологии. Пер. с англ. М.: «Колос», 1974, 343 с.
9. Nash S.N., Snyder W.C. Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean rot *Fusarium* in field soils. *Phytopathology*, 1962, vol. 52, pp. 567-572.
10. Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O. 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University, University Park, 193 pp.
11. Summerell B.A., Burgess L.W. Stubble management practices and survival of *Fusarium graminearum* Group 1 in wheat stubble residues. *Australian Plant Pathology*, 1988, vol. 17, pp. 88-93 (cited from: Leslie, Summerell, 2006).

ВИРУЛЕНТНОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ *PUSCINIA GRAMINIS* PERS. F. SP. TRITICIS НА ПОСЕВАХ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Киселева М.И., Коломиец Т.М.

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии (ВНИИФ), Большие Вяземы, Московская обл.

Биотрофный базидиомицет *Puccinia graminis* Pers. f. sp. tritici, или стеблевая ржавчина, – одно из наиболее вредоносных заболеваний зерновых культур, в том числе пшеницы [1]. Болезнь повреждает стебли и листья, вызывая разрывы эпидермиса и, как следствие, нарушение водного баланса. При значительном развитии болезни в результате усиленной транспирации возможны полная потеря урожая и гибель растений [3].

Стеблевая ржавчина паразитирует и вызывает значительные потери урожая в районах возделывания пшеницы

[20]. Болезнь активно развивается в странах Южной Америки, Канады, Европы, Индии, Австралии, южной и восточной Африке, Китае [6, 11, 16, 19, 22]. Эпифитотии болезни зарегистрированы на всех континентах, на которых выращивают пшеницу. Известны пути переноса уредоспор ржавчины по воздуху на огромные расстояния, способствующие быстрому распространению инфекции по миру [7].

Популяции *P. graminis* отличаются высоким уровнем внутривидовой изменчивости из-за ее способности к фор-

мированию большого количество физиологических рас. Тем не менее, в течение последних 50 лет в мировом производстве пшеницы удавалось сдерживать развитие опасных рас гриба, благодаря интродукции в культуру генов устойчивости, в том числе гена Sr31 [5].

Эпифитотии стеблевой ржавчины связаны с появлением в 1998–1999 гг. в Уганде (Восточная Африка) новой высоковирулентной расы Ug99 (ТТКСК), преодолевающей устойчивость сортов пшеницы с геном Sr31 [12, 21]. В настоящее время раса Ug99 признана в качестве основной угрозы для производства пшеницы [8]. В последние годы раса Ug99 не только распространилась в других странах, но и эволюционировала так, что смогла преодолеть устойчивость дополнительных генов, включая Sr24 - раса ТТКСТ [9], Sr36 - раса ТТТСК [10] и SrTmp - расы ТТКТТ и ТТКТК [17]. Так, в 2016 году раса Ug99 была обнаружена в странах Африки и Ближнего Востока [4, 13, 14, 15, 18].

В России раса Ug99 впервые была выявлена в 2013 году в условиях эпифитотии стеблевой ржавчины на полях яровой мягкой пшеницы в Саратовской области [2].

В ФГБНУ ВНИИФ (Московская область) ежегодно ведется мониторинг внутривидовой структуры популяции *P. graminis*, результатом которой является отслеживание частоты встречаемости генов вирулентности гриба на территории Нечерноземной зоны России. В связи с высокой потенциальной вредоносностью возбудителя стеблевой ржавчины, мониторинг вирулентности стеблевой ржавчины приобретает особое значение, так как заблаговременный прогноз появления новых и опасных рас патогена дает возможность предусмотреть необходимые меры защиты от потерь урожая.

Целью данных исследований являлось определение внутривидового разнообразия популяции *P. graminis* в Московской области (ООО «Захаровское») в 2020 году по результатам дифференциации вирулентности изолятов гриба на изогенных линиях пшеницы.

Материалом служили 17 монопустульных изолятов *P. graminis*, которые были получены в результате обследований посевов пшеницы и сбора пораженных образцов с

сортов яровой пшеницы Дарья, Беяна, Надина, Маэстро, Никон, Гранева, Айсман, Барекат, Тризо, КВС-В374. Интенсивность поражения образцов пшеницы популяцией стеблевой ржавчины составляла 25-80%.

Эксперименты по выделению и размножению изолятов гриба были проведены в условиях лаборатории искусственного климата. Вирулентность и расовую принадлежность изолятов стеблевой ржавчины определяли по международным методикам [9, 19].

Монопустульные изоляты *P. graminis* проявили вирулентность к 16 изогенным линиям пшеницы: Sr5, Sr6, Sr7b, Sr8a, Sr9a, Sr9d, Sr9e, Sr9g, Sr10, Sr11, Sr21, Sr30, Sr36, Sr38, SrTmp, SrMcN, и авирулентность - к 4 линиям: Sr9b, Sr17+13, Sr24, Sr31.

Изоляты гриба различались по количеству генов вирулентности и содержали от 5 до 12 генов. Наиболее вирулентными оказались изоляты, выделенные с сортов Дарья, Маэстро, Барекат, Тризо. Наиболее часто в популяции *P. graminis* (более чем в 50% проверенных изолятах гриба) отмечали гены, вирулентные к линиям Sr5, Sr6, Sr7b, Sr8a, Sr9a, Sr9g, Sr10, Sr21, Sr36, SrTmp, SrMcN. При заражении этих моногенных линий пшеницы изолятами патогена на листьях формировались пустулы восприимчивого и умеренно восприимчивого типа, с интенсивностью поражения от 10% до 40%.

Поскольку к линиям Sr9b, Sr17+13, Sr24, Sr31 все изоляты гриба были авирулентными, указанные гены устойчивости обладали эффективными свойствами против популяции *P. graminis* из Московской области.

Изоляты стеблевой ржавчины характеризовались широким разнообразием по признаку вирулентности, комбинации генов вирулентности/авирулентности ни у одного из изолятов не повторялись. По реакциям Sr линий пшеницы на внедрение изучаемых изолятов гриба выявили 17 фенотипов, которые по составу генов вирулентности были отнесены к 17 расам (табл. 1). Все это свидетельствует о значительном внутривидовом разнообразии популяции *P. graminis* из Московской области.

Таблица 1 – Формулы вирулентности изолятов *P. graminis*, изучаемых на изогенных линиях пшеницы (ФГБНУ ВНИИФ, 2021 г.)

Код изолята	Происхождение	Гены вирулентности к Sr-линиям пшеницы	Кол. генов	Кодовое обозначение расы
1-1	2020, Захарово, оз. пш, Дарья	5,6,7b,8a,9a,9d,10,21,36, Tmp, McN	11	RJLTC
1-2	2020, Захарово, оз. пш, Дарья	6,7b,8a,9a,9d,9g,10,21,30, 36, Tmp, McN	12	HKNTC
1-3	2020, Захарово, оз. пш, Дарья	5,6,7b,8a,9a,9d,10,11,21,36, Tmp, McN	12	RSLTC
2	2020, Захарово, оз. пш, Беяна	8a,9a,9d,9e,9g,30,36, Tmp, McN	9	DFNRC
3-1	2020, Захарово, оз. пш, Надина	5,6,9a,9g,21,38, McN	7	QHBLF
3-2	2020, Захарово, оз. пш, Надина	5,6,7b,21,36,38, McN	7	RGLBF
4	2020, Захарово, оз. пш, Маэстро	5,7b,9a,9d,9e,9g,10,30,36, Tmp, McN	11	PCNTC
5-1	2020, Захарово, оз. пш, Никон	7b,9e,9g,10, McN	5	FCBDC
5-2	2020, Захарово, оз. пш, Никон	7b,9a,9g,10, Tmp, McN	6	CCBPC
6-1	2020, Захарово, оз. пш, Гранева	5,6,8a,9a,9d,21,36, Tmp, McN	9	QJLRC
6-2	2020, Захарово, оз. пш, Гранева	5,6,8a,9a,9d,21,30,36, Tmp, McN	10	QJNRC
7	2020, Захарово, оз. пш, Айсман	5,6,9g,10,21, McN	6	QHBDC
8	2020, Захарово, оз. пш, Барекат	6,7b,8a,9a,9d,10,11,30,36, Tmp, McN	11	CSNTC
9	2020, Захарово, оз. пш, Тризо	8a,9a,9d,9g,10,11,21, 30,36,McN	10	GPNSC
10-1	2020, Захарово, оз. пш, КВС-В374	5,8a,9a,9d,9g,10,21, Tmp, McN	9	QFBTC
10-2	2020, Захарово, оз. пш, КВС-В374	5,8a,9a,9d,10,21,36, Tmp, McN	9	QDLTC
10-3	2020, Захарово, оз. пш, КВС-В374	5,7b,9a,9g, 38,McN	6	MCBLF

Полученные данные свидетельствуют о широком спектре вирулентности популяции *P. graminis* в Московской области, в связи с чем мониторинг частоты встречаемости генов гриба остается актуальным.

Наиболее распространенными в московской популяции стеблевой ржавчины пшеницы являются гены, проявившие вирулентность к 11 линиям пшеницы: Sr5, Sr8a, Sr9a, Sr9d, Sr9g, Sr10, Sr21, Sr30, Sr36, SrTmp, SrMcN. Частота встречаемости изолятов *P. graminis* с этими генами составила 50-100%. Эффективными генами устойчивости к стеблевой ржавчине в популяции являлись Sr9b, Sr17+13, Sr24, Sr31.

Список литературы

1. Кохметова А. М., Атишова М. Н. Идентификация источников устойчивости к стеблевой ржавчине пшеницы с использованием молекулярных маркеров // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012. Т. 16. № 1. С. 132–141.
2. Сибикеев С. Н., Маркелова Т. С., Баукенова Э. А. и др. Вероятная угроза распространения расы UG99 *Puccinia graminis* f. sp. tritici пшеницы на Юго-Востоке России / Российская сельскохозяйственная наука. 2016. № 1. С. 18–20
3. Сколотнева Е. С., Леонова И. Н., Букатиц Е. Ю. и др. Методические подходы к идентификации эффективных генов, определяющих устойчивость пшеницы к комплексу грибных заболеваний. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. Т. 21. № 7. С. 862–869
4. Boshoff W. H. P., Pretorius Z. A., Van Niekerk B. D., et al. First report of virulence in *Puccinia graminis* f. sp. tritici to wheat stem rust resistance genes Sr8b and Sr38 in South Africa / Plant Dis. 2002. Vol. 86. No. 8, p. 922
5. Flath K., Miedaner T., Olivera P. D., et al. Genes for wheat stem rust resistance postulated in German cultivars and their efficacy in seedling and adult-plant field tests / Plant Breed. 2018. Vol. 137. No. 7. p. 1–12.
6. German S. E., Barcellos A., Chaves M., et al. The situation of common wheat rusts in the Southern Cone of America and perspectives for control / Australian Journal of Agricultural Research. 2007. Vol. 58. No 6, p. 20–30.
7. Goutam U., Kukreja S., Yadav R., et al. Recent trends and perspectives of molecular markers against fungal diseases in wheat / Frontiers in Microbiol. 2015. Vol. 6. No. 861. p. 1–14.
8. Hiebert W. C., Fetch T. G. Jr., Zegeye T., et al. Genetics and mapping of stem rust resistance to Ug99 in the wheat cultivar Webster / Theoretical and Applied Genetics. 2010. Vol. 121. No. 1 p. 65–69.
9. Jin Y., Szabo L. J., Pretorius Z. A., et al. Detection of virulence to resistance gene Sr24 within the race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. tritici / Plant Dis. 2008. Vol. 92. p. 923–926.
10. Jin Y., Szabo L. J., Rouse M. N., et al. Detection of virulence to resistance gene Sr36 within the TTKS race lineage of *Puccinia graminis* f. sp. tritici / Plant Dis. 2009. Vol. 93. p. 367–370
11. Kolmer J. A. Early research on the genetics of *Puccinia graminis* and stem rust resistance in wheat in Canada and the United States // Peterson P. Stem rust of wheat: from ancient enemy to modern foe. St. Paul: APS Press, 2001. p. 51–82.
12. McIntosh R. A., Wellings C. R., Park R. F. Wheat rusts: an atlas of resistance genes. CSIRO Australia, Sydney: Kluwer Academic Publishers, 1995. 200 p.
13. F. Mukoyi, T. Soko, E. Mulima, et al. Detection of variants of wheat stem rust race Ug99 (*Puccinia graminis* f. sp. tritici) in Zimbabwe and Mozambique / Plant Dis. 2011. Vol. 95. No 9, p. 1188
14. Nazari K., Mafi M., Yahyaoui A., et al. Detection of wheat stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. tritici) race TTKSK (Ug99) in Iran / Plant Dis. 2009. Vol. 93. P. 317
15. Nazari K., Mafi M., Yahyaoui A., et al. Detection of wheat stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. tritici) race TTKSK (Ug99) in Iran / Plant Dis. 2009. Vol. 93. P. 317
16. Park R. L. Stem rust of wheat in Australia // Australian Journal of Agricultural Research. 2007. Vol. 58. No. 6. Pp. 558–566
17. Patpour M., Hovmoller M. S., Justesen A. F., et al. Emergence of virulence to SrTmp in the Ug99 race group of wheat stem rust, *Puccinia graminis* f. sp. tritici, in Africa / Plant Dis. 2015. Vol. 100. No. 2 P. 522
18. Pretorius Z. A., Prince R. Are South African wheat cultivars protected against Ug99 stem rust? // Proceedings of the 9th Southern African Plant Breeding Symposium (Abstracts). South Africa: Skukuza, 2012. P. 43
19. Roelfs A. P., Singh R. P., Saari E. E. Rust Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management. Mexico: CIMMYT, D.F., 1992. 81
20. Singh R. P., Hodson D. P., Jin Y., et al. Emergence and spread of new races of wheat stem rust fungus: Continued threat to food security and prospects of genetic control // Phytopathology. 2015. Vol. 105. No. 7 Pp. 872–884
21. Singh R. P., Hodson D. P., Huerta-Espino J., et al. The emergence of Ug99 races of the stem rust fungus is a threat to world wheat production / An. Rev. Phyt. 2011. Vol. 49. Pp. 465–481
22. Wanyera R., Kinyua M. G., Jin Y., et al. The Spread of Stem Rust Caused by *Puccinia graminis* f. sp. tritici, with Virulence on Sr31 in Wheat in Eastern Africa / Plant Dis. 2006. Vol. 90. No. 1. P. 113

АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДНК ГЕНОВ СУКЦИНАТ-ДЕГИДРОГЕНАЗЫ (SDH) У ВИДОВ КРУПНОСПОРОВЫХ ALTERNARIA - ВОЗБУДИТЕЛЕЙ АЛЬТЕРНАРИОЗА КАРТОФЕЛЯ И ТОМАТА

Кокаева Л.Ю.^{1,2}, Еланский С.Н.^{1,2}

¹Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

²Российский университет дружбы народов, Москва

Абстракт

Изоляты различных видов *Alternaria*, собранные в европейской части России и на Дальнем Востоке, были протестированы на наличие однонуклеотидных замен (SNP) в генах сукцинат-дегидрогеназы SDH. Такие мутации

возникают в популяции в ответ на обработку фунгицидами-ингибиторами сукцинат-дегидрогеназы. Всего было проанализировано 33 изолята крупноспорных *Alternaria*, собранных на полях картофеля и томата в 2016–2021 гг. В результате проведенных исследований не было найдено

мутаций устойчивости в SDH генах. Однако, обнаруженный полиморфизм (SNPs) в генах субъединиц *sdh B*, *C* и *D* позволил выявить различие между штаммами, выделенными из картофеля и томата.

Введение

Альтерналиоз картофеля и томата (*Solanum tuberosum L.*), вызываемый крупноспоровыми видами *Alternaria*, является одним из наиболее распространенных заболеваний картофеля в России. Эффективный контроль над альтерналиозом возможен только химическим путем, с использованием фунгицидов. Фунгициды – ингибиторы сукцинатдегидрогеназы (*succinate dehydrogenase inhibitor, SDHI*) – одни из самых популярных в мире в борьбе с альтерналиозом. Они специфически ингибируют грибное дыхание, блокируя убухинон-связывающие сайты в митохондриальном комплексе II. Этот класс фунгицидов начал быстро пополняться новыми веществами в 2000-х гг. и насчитывает в настоящее время более 20 действующих вещества (Соколова, Глинушкин, 2020, SDHI Working Group Meeting, 2020), среди которых наблюдается кросс-резистентность. В России на картофеле применяются содержащие боскалид препараты Сигнум, ВДГ (боскалид+пираклостробин, БАСФ) и Крез, КС (крезоксим-метил+боскалид, Листерра). Фитопатогенные грибы характеризуются высоким потенциалом изменчивости. Были выявлены однонуклеотидные замены – цитозина (C) на тимин (T) в позиции 990, что привело к замене гистидина (H) на тирозин (Y) в 278 кодоне

SdhB субъединицы (H278Y) и, в результате, к появлению устойчивости к SDHI фунгицидам. Позже были выявлены и другие мутации устойчивости, расположенные в генах сукцинатдегидрогеназы. В России изучением распространенности устойчивых к SDHI фунгицидам штаммов не занимались, работ по изучению последовательностей генов SDH нам не известно. В настоящей работе проведен анализ последовательностей трех субъединиц сукцинатдегидрогеназы – генов *SDHa*, *SDHb*, *SDHc*.

Материалы и методы

Происхождение изолятов: В работе использовали изоляты возбудителей альтерналиоза, выделенные в 2016–2021 годах в Хабаровском и Приморском краях, Ленинградской, Московской, Воронежской, Астраханской, Костромской, Смоленской областях, Марий-Эл, Татарстане и Беларуси. Из каждого очага альтерналиоза (пятно на листе) выделили 1 изолят.

Определение видов *Alternaria*: Шесть различных молекулярных маркеров было использовано для идентификации фрагментов генов видов *Alternaria*: 1) основного аллелгена *Alt a1*; 2) кальмодулина *CMD*; 3) *ITS1-5,8S-ITS2*; 4) глицеральдегидфосфатдегидрогеназы *GAPDH*; 5) ДНК-зависимой РНК полимеразы II *RPB2*; 6) фактора элонгации транскрипции *TEF1 a*. Условия амплификации и использованные праймеры описаны в статье *Kokaeva et al., (2022)*.

Также были амплифицированы и секвенированы три различных субъединицы гена сукцинатдегидрогеназы

Таблица 1. Праймеры, использованные для амплификации *SDH B, C, D* (Malik et al., 2014).

Праймер	Последовательность (5`-3`)
<i>SdhB</i> -F	ATGGCCTCCATACGCGCTTT
<i>SdhB</i> -R	CTAGGTGAAGGCCATGCTCTT
<i>SdhC</i> -F1	ATGGCTTCTCAGCGGGTATTTTCAGC
<i>SdhC</i> -R2	TCCATCCAGTGCGGATAACC
<i>SdhD</i> -F1	ATGGCCTCCGTCATGCGT
<i>SdhD</i> -R2	CCTCGGTGATACCAACATCGTTTGTGTC

Рис. 1. Однонуклеотидные замены в гене *SdhB* в исследуемых образцах *Alternaria sp.*

	95	427	430	630	635	680	930	970
Томатные штаммы	1. A18AKTL117/7	:CAATCAC	TTTCAGGCC	GTACCCAGACA	TATCTGC	TCACGGG	CAATAGCATC	
	2. A17АНТЛ	:CAATCAC	TTTCAGGCC	GTACCCAGACA	TATCTGC	TCACGGG	CAATAGCATC	
	3. A17АНТЛ 2	:CAATCAC	TTTCAGGCC	GTACCCAGACA	TATCTGC	TCACGGG	CAATAGCATC	
	4. A17MYKTL10/1	:CAATCAC	TTTCAGGCC	GTACCCAGACA	TATCTGC	TCACGGG	CAATAGCATC	
	5. A18MYKTL18/1	:CAATCAC	TTTCAGGCC	GTACCCAGACA	TATCTGC	TCACGGG	CAATAGCATC	
	6. A16UsPL31	:CAGCAC	TTTCAGGCC	GTACCCGAC	TATCTGC	TCACGAG	CAACAGCATC	
Картоф. штаммы	7. A17VIPL41	:CAGCAC	TTTCAGGCC	GTACCCGAC	TATCTGC	TCACGAG	CAACAGCATC	
	8. A17VIPL51	:CAGCAC	TTTCAGGCC	GTACCCGAC	TATCTGC	TCACGAG	CAACAGCATC	
	9. A16KhPL41	:CAGCAC	TTTCAGGCC	GTACCCGAC	TATCTGC	TCACGAG	CAACAGCATC	
	10. A7АНТР11А	:CAGCAC	TTTCAGGCC	GTACCCGAC	TATCTGC	TCACGAG	CAACAGCATC	
	11. KC517310.1_Alte...	:CAGCAC	TTTCAGGCC	GTACCCGAC	TATCTGC	TCACGAG	CAACAGCATC	
	12. KC517311.1_Alte...	:CAGCAC	TTTCAGGCC	GTACCCGAC	TATCTGC	TCACGAG	CAACAGCATC	
	13. KC517312.1_Alte...	:CAGCAC	TTTCAGGCC	GTACCCGAC	TATCTGC	TCACGAG	CAACAGCATC	

(*sdhB*, *sdhC* и *sdhD*). Использовали праймеры, приведенные в таблице 1, условия амплификации были следующими: 95°C 3 минуты, 35 циклов 95°C 30 секунд, 60°C 30 секунд, 72°C 30 секунд, и конечную стадию элонгации при 72°C в течение 4 мин. Размеры ампликонов для *sdhB*, *sdhC* и *sdhD* составляли 1060 п.н., 622 п.н. и 633 п.н., соответствен-

но. Для сравнения последовательностей, три субъединицы SDH также были отсеквенированы для *A. alternata*.

Результаты

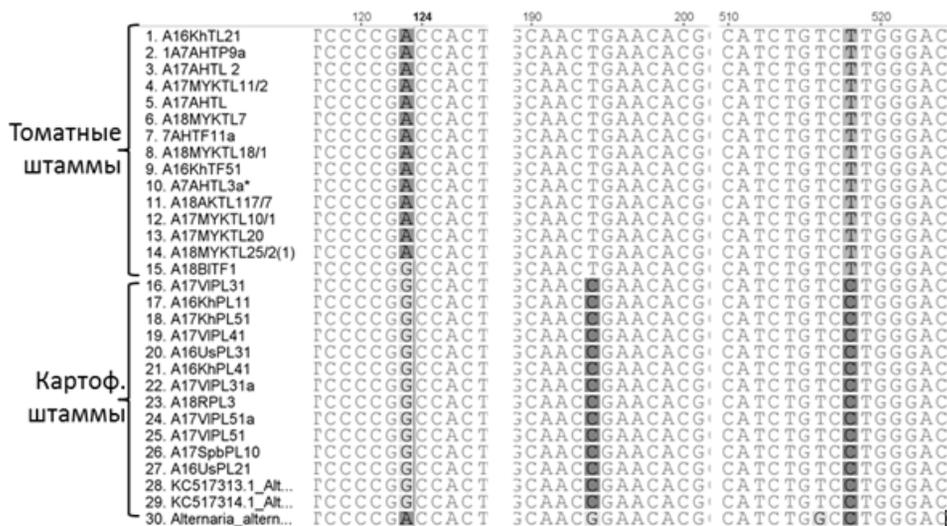
Были изучены последовательности 33 изолятов *Alternaria solani*, выделенных из картофеля и томата в 2016-2018 гг.

Получены последовательности всего гена SdhB (1082 п.н.). Ген содержит три интрона и открытую рамку считывания (ORF), кодирующую белок из 308 аминокислот. Последовательности не содержали известные для этого гена мутации устойчивости (H278Y, H278R). Однако в гене был обнаружен ряд замен, часть из которых была характерна для всех изолятов, выделенных из томата (рис. 1).

Замена в 95 нуклеotide находится в некодирующих последовательностях - интронах и не транскрибируется в аминокислоты, а остальные замены не вызывают изменений в аминокислотах.

После секвенирования части SdhC гена были получены последовательности длиной 570 п.н., содержащие один интрон и ORF, кодирующую белок из 160 аминокислот.

Рис. 2 Однонуклеотидные замены в гене SdhC в исследуемых образцах *Alternaria sp.*



Было обнаружено 2 замены у штаммов, выделенных как с картофеля, так и с томата (рис. 2). Замена G на A в 123 нуклеotide находится в интроне и не транскрибируется в белок. Замена C→T в 518 основании не приводит к изменению в

последовательности белка. Замена H134R в исследованных штаммах обнаружено не было.

Полная последовательность гена SdhD имеет длину 607 п.н. с одним интроном и ORF, кодирующей белок из 185 аминокислот. Несмотря на то, что замены H133R, вызыва-

Рис. 3. Однонуклеотидные замены в гене SdhD в исследуемых образцах *Alternaria sp.*

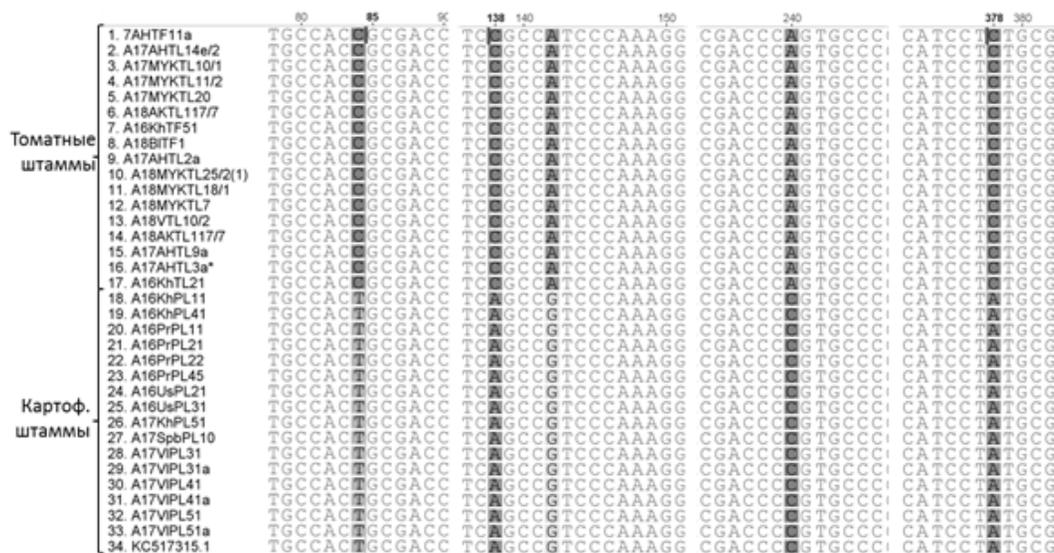


Рис. 4. Аминокислотные последовательности гена SdhD

Consensus Identity	48 50 140		
	QRS	AIPKA	ESCIIID
1. KC517315.1_Alternaria_so...	QRS	AVPKA	ESCIIID
2. A18MYKTL25/2(1) translation	QRS	AIPKA	ESCIIID
3. A17MYKTL20 translation	QRS	AIPKA	ESCIIID
4. A17AHTL translation	QRS	AIPKA	ESCIIID
5. A16KhTF51 translation	QRS	AIPKA	ESCIIID
6. A17MYKTL11/2 translation	QRS	AIPKA	ESCIIID
7. A16KhTL21 translation	QRS	AIPKA	ESCIIID
8. A18MYKTL18/1 translation	QRS	AIPKA	ESCIIID
9. A17AHTL 2 translation	QRS	AIPKA	ESCIIID
10. A17MYKTL10/1 translation	QRS	AIPKA	ESCIIID
11. A18AKTL117/7 translation	QRS	AIPKA	ESCIIID
12. 7AHTF translation	QRS	AIPKA	ESCIIID
13. A18BITF1 translation	QRS	AIPKA	ESCIIID
14. A16KhPL11 translation	QRS	AVPKA	ESCIIID
15. A17VIPL31 translation	QRS	AVPKA	ESCIIID
16. A16UsPL31 translation	QRS	AVPKA	ESCIIID
17. A17SpsPL10 translation	QRS	AVPKA	ESCIIID
18. A17VIPL31a translation	QRS	AVPKA	ESCIIID
19. A17VIPL51 translation	QRS	AVPKA	ESCIIID
20. A16KhPL41 translation	QRS	AVPKA	ESCIIID
21. A17VIPL41 translation	QRS	AVPKA	ESCIIID
22. A17KhPL51 translation	QRS	AVPKA	ESCIIID
23. 12RPL3_A.alternata trans...	QRS	TIQKS	ESCIIID

ющей высокую устойчивость к боскалиду найдено не было, в гене содержится целый ряд замен. Восемь разных SNP в кодирующей области гена SdhD (рис. 3, таблица 2). Эти замены были специфичны для всех 16 штаммов, выделенных из томата.

SNP в кодоне 48 был не синонимичным и кодировал 2 разных аминокислоты: валин для картофельных и изолейцин для томатных изолятов. (рис 4., таблица 2).

Таким образом, было обнаружено, что три SNP в SdhB и 8 в SdhD дифференцируют изоляты, выделенные с кар-

Таблица 2. Однонуклеотидные замены (SNP) в SDH генах, различающие штаммы с картофеля и томата

Аминокислота	Кодон	Полиморфизм	Растение-хозяин	Локализация
T	28	ACT	картофель	SdhD экзон
		ACC	томат	
S	46	TCA	картофель	SdhD экзон
		TCC	томат	
V	48	GTC	картофель	SdhD экзон
		ATC	томат	
P	67	CCA	картофель	SdhD экзон
		CCC	томат	
P	80	CCC	картофель	SdhD экзон
		CCA	томат	
I	106	ATT	картофель	SdhD экзон
		ATC	томат	
L	126	CTA	картофель	SdhD экзон
		CTC	томат	
L	130	CTC	картофель	SdhD экзон
		CTG	томат	
P	176	CCG	картофель	SdhB экзон
		CCA	томат	
D	257	CGA	картофель	SdhB экзон
		CGC	томат	
N	270	AAC	картофель	SdhB экзон
		AAT	томат	

тофеля и томата (таблица 2). Анализ последовательности субъединиц гена SDH показал, что эти изоляты более тесно связаны друг с другом, чем с другими видами *Alternaria* (*A. alternata* и *A. brassicae*).

В настоящем исследовании в генах SdhB, SdhC и SdhD не было выявлено известных мутаций, ведущих к появлению устойчивости к SDHI фунгицидам. В то же время было выявлено несколько однонуклеотидных замен, специфичных только для изолятов, выделенных из томата, кодирующих железо-серный белок и якорные белки комплекса Sdh. Было выявлено пять различных точечных мутаций в этих генах Sdh, приводящих к аминокислотным заменам в субъединицах SDH. По всей видимости, в совокупности с другими генами, SDH гены можно использовать как филогенетически значимые, в особенности SdhD. Схожие результаты были получены и другими авторами, так, например, в статье Andersen et al. (2008) изоляты *A. solani sensu lato* разделялись на две четкие группы по профилю вторичных метаболитов. Также, немецкими исследователями (Leiminger et al. 2014) были выявлены два генотипа *A. solani* по структуре гена цитохрома b (cyt b).

ФИТОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ И УСТОЙЧИВОСТЬ СОРТОВ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО К ПАТОГЕНАМ В УСЛОВИЯХ ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Королев К.П.¹, Боме Н.А.¹, Утебаев М.У.²

¹ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет»

² Научно-производственный центр зернового хозяйства им. А.И. Бараева, Шортанды-1, Республика Казахстан

Подбор адаптированных сортов позволяет наиболее эффективно использовать не всегда вполне удовлетворяющий биоклиматический потенциал региона выращивания [1], при этом, важную роль играет селекционная работа, направленная на создание устойчивых сортов к фитопатогенам, включающая знание эволюции возбудителей, использование современного лабораторно-полевого инструментария оценки вирулентности популяций, расового и штаммового состава [2,3]. В связи с отсутствием районированных сортов льна масличного для территории Тюменской области, требуется оценка их реакции на воздействие фитопатогенов и подбор устойчивых генотипов для выращивания. Цель настоящего исследования – выявление взаимосвязи между вредоносностью фитопатогенных грибов, урожайностью и качеством семян льна масличного.

Полевое испытание сортов льна масличного, различающихся по эколого-географическому происхождению, проводили в 2018-2021 гг. на опытном полигоне для изучения генетического разнообразия культурных растений (биостанция ТюмГУ «Озеро Кучак», Нижнетавдинский район, Тюменская область). Почва участка окультуренная дерново-подзолистая супесчаная с содержанием гумуса (3,6%), подвижных форм фосфора (3434,00 мг/кг), обменного калия (234,00 мг/кг). Учетная площадь делянки – 1м². Повторность опыта – трехкратная. Размещение делянок – рандомизированное. Фитопатологический мониторинг сортов в период вегетации, расчет степени развития (R, %) болезней проводили согласно общепринятым методикам [4,5]. Содержание масла (ГОСТ 10857-64) и белка (ГОСТ 10846-91) в семенах определяли в лаборатории биохимии и технологии качества «Аналитического центра по определению качества почвы и растениеводческой продукции ТОО

Список литературы

1. Соколова, Г. Д., & Глинушкин, А. П. (2020). Механизмы устойчивости к фунгицидам фитопатогенного гриба *Fusarium graminearum*. Микология и фитопатология, 54(6), 391-403.
2. Kokaeva, L. Y., Yarmeeva, M. M., Kokaeva, Z. G., Chudinova, E. M., Balabko, P. N., & Elansky, S. N. (2022). Phylogenetic Study of *Alternaria* Potato and Tomato Pathogens in Russia. Diversity, 14(8), 685.
3. Malik, W., Ashraf, J., Iqbal, M. Z., Ali Khan, A., Qayyum, A., Ali Abid, M., et. al. (2014). Molecular markers and cotton genetic improvement: current status and future prospects. The Scientific World Journal. <https://doi.org/10.1155/2014/607091>.
4. Andersen B, Dongo A, Pryor BM (2008). Secondary metabolite profiling of *Alternaria dauci*, *A. porri*, *A. solani*, and *A. tomatophila*. Mycological Research 112: 241–250
5. Leiminger, J. H., Adolf, B., & Hausladen, H. (2014). Occurrence of the F129L mutation in *Alternaria solani* populations in Germany in response to QoI application, and its effect on sensitivity. Plant Pathology, 63(3), 640-650.

«НПЦ ЗХ им. А.И. Бараева». Статистическую обработку экспериментальных данных выполняли по методике, изложенной Б.А. Доспеховым [6].

В результате полевого тестинга на сортах льна масличного выявлены признаки поражения фузариозным увяданием (возб. *Fusarium lini* Boll), септориозом (возб. *Septoria linicola* (Speg) Grass) и бактериозом. В наибольшей степени сорта были подвержены фузариозному увяданию (R = 7,4-29,5%), в меньшей – септориозу (R = 5,3-12,5%) и бактериозу (R = 5,6-18,3%).

Устойчивые к фузариозному увяданию сорта, доля которых от числа изученных составила 61,1%, характеризовались относительно высокой урожайностью (95,5-117,0 г/м²), выделились сорта Август, Легур, Крокус (табл.).

В засушливых условиях вегетационного периода 2021 года важно было выяснить реакцию сортов на тепловой и водный стресс по выходу семян и их биохимическим показателям. Содержание масла в семенах изученных сортов составило 47,9% (Август) – 37,8% (Сонечны), при среднем популяционном значении 42,3%. У сортов со слабой восприимчивостью к фузариозному увяданию (Еруслан, Сонечны, Циан) отмечено повышенное содержание белка (на 1,4-2,3% выше среднего по сортам). На уровне среднего популяционного значения или выше по показателю белка в семенах были сорта устойчивые к септориозу (Август, Даник, Крокус) и бактериозу (Даник, Итиль, Циан). Для селекционных программ особую ценность представляют сорта, сочетающие комплексную устойчивость к заболеваниям с хорошими показателями урожайности, масла и белка (Август, Даник, Циан).

Таким образом, в контрастных метеорологических условиях вегетационных периодов 2018-2021 гг.) лен маслич-

Таблица. Характеристика сортов льна масличного, устойчивых к фузариозному увяданию, по урожайности и биохимическим показателям

Сорт	Степень развития болезни, %*	Урожайность, г/м ² *	Содержание, %	
			белка**	масла**
Август	7,4±0,24	117,0±3,80	21,8	47,9
Легур	8,4±0,19	84,2±4,15	21,1	41,1
Крокус	11,1±2,35	112,2±9,43	20,8	43,5
Еруслан	12,3±3,44	110,6±5,66	23,9	38,7
Сонечны	12,4±1,55	103,0±10,00	23,0	37,8
Циан	14,5±0,99	106,2±8,23	23,0	42,5
Ручеек	15,6±1,16	83,5±11,03	21,8	41,8
Бирюза	17,6±1,33	72,1±9,99	21,8	42,4
Кустанайский янтарь	18,3±2,22	69,9±5,61	19,1	43,8
Исилькульский	18,4±4,50	106,3±10,02	21,8	40,8
Итиль	19,9±1,18	95,5±8,88	20,5	45,1
Среднее по сортам, X±S _x	14,1±1,06	96,4±4,82	21,7	42,3

Примечание:* данные за 2018-2021 гг.; ** данные за 2021 г.

ный формировал полноценные семена с урожайностью по сортам 69,9-132,6 г/м². Наибольшая урожайность (118,6 г/м²) была получена у сорта Крокус в 2020 году. Урожайность, содержание белка и масла в семенах определяются устойчивостью генотипа к воздействию фитопатогенных грибов и ответной реакцией на стрессовые факторы окружающей среды (температурный режим, влагообеспеченность). Подбор сортов, имеющих высокую семенную продуктивность и биохимический статус, позволит более эффективно использовать сортовой потенциал льна масличного при выращивании в данной агроклиматической зоне.

Список литературы

1. Жученко, А. А. Экологическая генетика культурных растений и проблемы агросферы: (теория и практика) / А. А. Жученко. – Москва – 2004. – Т. 2 – 466 с.
2. Лошакова, Н. И. Состояние и перспективы исследований по иммунитету льна-долгунца к болезням / Н.

И. Лошакова, Л. Н. Павлова // Научные достижения – льноводству. Материалы науч.-практ. конф.: «Основные результаты и направления развития научных исследований по льну-долгунцу», посвященной 80-летию образования ВНИИ льна. – Торжок, 2010. – С. 110-117.

3. Лошакова, Н. И. Устойчивые сорта - эффективный путь борьбы с болезнями льна / Н. И. Лошакова // Защита и карантин растений. – 2011. – № 9. – С. 43-44.
4. Методические указания по изучению коллекции льна (*Linum usitatissimum* L.). – Л.: ВИР. – 1988. – 28 с.
5. Драховская, М.Д. Прогноз в защите растений – Сельхозлитература, 1962. – С. 168-175.
6. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б. А. Доспехов. М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

ЗАЩИТА КАРТОФЕЛЯ ОТ ФИТОФТОРОЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИСТЕМНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Кузнецова М.А., Демидова В.Н., Рогожин А.Н., Сметанина., Т.И., Уколова А.Ю.
ФГБНУ ВНИИ фитопатологии, Большие Вяземы, Московская обл.

Оомицет *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary является возбудителем фитофтороза, наиболее вредоносной болезни картофеля и главной причиной использования химических защитных средств на этой культуре. Патоген *P. infestans* поражает листья, стебли и клубни картофеля; при отсутствии эффективной защиты посадок картофеля, потери урожая от фитофтороза могут достигать 100% (Кузнецова М.А., 2007).

В последнее десятилетие появляются чрезвычайно агрессивные штаммы *P. infestans*, которые преодолевают долговременную устойчивость многих выращиваемых сортов картофеля, а также резистентные к широко применяемым системным препаратам на основе металаксила (Statsyuk N.V и др., 2014; Филиппов А.В. и др., 2016). Вместе с тем, в последние годы для защиты картофеля от фитофтороза появляются новые фунгициды с совершенно уни-

кальными действующими веществами. К таковым относится препарат Зорвек Энкантия (300 г/л фамоксадона + 30 г/л оксатиапипролина).

Оксатиапипролин, системный компонент действует на оксистерол-связывающий белок, блокирование которого приводит сначала к остановке роста мицелия гриба и ростковых трубок спор и в дальнейшем гибели гриба. По классификации FRAC относится к группе 49 и не имеет перекрестной резистентности с существующими действующими веществами.

Второе действующее вещество – Фамоксадон является контактным компонентом препарата, прочно связывается с кутикулой и сохраняется в восковом слое листьев.

Фамоксадон относится к группе 11 по классификации FRAC и является ингибитором клеточного дыхания, кото-

рый блокирует работу убихинона в третьем комплексе дыхательной цепи в митохондриях грибных клеток.

Цель исследований – оценить эффективность и продолжительность сохранения на растениях картофеля Зорвек Энкантия в сравнении с эталонными системными препаратами - Ридомил Голд МЦ, ВДГ (40 г/кг мефеноксам + 640 г/кг манкоцеб) и Инфинито (62,5 г/л пропамокарб гидроклорид + 62,5 г/л флюопиколид). С этой целью во ВНИИФ в 2021 году на экспериментальном поле «Раменская Горка» были заложены два целевых опыта на восприимчивом к фитофторозу сорте картофеля «Аризона».

Цель первого опыта - оценить срок защитного действия препарата Зорвек Энкантия (0,5 л/га), в сравнении с эталонными системными препаратами - Ридомил Голд МЦ, ВДГ (2,5 кг/га) и Инфинито (1,6 л/га).

Растения картофеля сорта Аризона, выращиваемые в поле, опрыскивали изучаемыми фунгицидами в фазу бутонизации с помощью опрыскивателя Birchmeier в рекомендованных нормах расхода: Зорвек Энкантия (0,5 л/га), Ридомил Голд МЦ (2,5 кг/га), Инфинито (1,6 л/га). Спустя 1, 3, 5, 7, 10, 15 и 20 суток после обработки, листья отделяли от растений и помещали на кюветы с увлажненной фильтровальной бумагой и в лабораторных условиях инокулировали зооспорами *P.infestans*.

Для искусственного заражения использовали агрессивный изолят МО.К.№161. Возраст культуры - 10 дней. Расход споровой суспензии 5 мл на кювету, содержание зооспорангиев 20000 шт./мл.

После инокуляции кюветы с листьями помещали в увлажненные полиэтиленовые пакеты и выдерживали в течение суток при температуре 20°C, затем листья переносили во флаконы с водой. Контролем служили листья, обработанные водой. Спустя 4 суток после инокуляции учитывали количество некрозов на лист в контроле и в вариантах с испытываемыми фунгицидами (табл.1).

Цель второго опыта - определить биологическую эффективность фунгицида Зорвек Энкантия в сравнении с эталонными препаратами - Ридомил Голд МЦ, ВДГ (2,5 кг/га) и Инфинито (1,6 л/га).

Варианты опыта:

1) Зорвек Энкантия в дозе 0,5 л/га (3 обр.); Танос в дозе 0,6 кг/га (1 обр.); Ранман Топ, (0,5 л/га) (2 обр.).

2) Ридомил Голд МЦ в дозе 2,5 кг/га (3 обр.); Танос в дозе 0,6 кг/га (1 обр.); Ранман Топ, (0,5 л/га) (2 обр.).

3) Инфинито в дозе 1,6 л/га (3 обр.); Танос в дозе 0,6 кг/га (1 обр.); Ранман Топ, (0,5 л/га) (2 обр.).

4) Контроль (без обр.).

Дата посадки картофеля сорта Аризона – 20 мая. Агротехнические мероприятия по уходу за опытными растениями включали: зяблевая вспашка – 10.10. 2020; 05.05. 2021 – дискование; 07.05.2021 – глубокая культивация; 15.05.2021 – нарезание гряд; 01.06.2021 – окучивание с фрезерованием. Органические удобрения вносили в дозе 50 т/га под предшествующую культуру, перед посадкой картофеля - минеральные удобрения в дозе 70 кг/га по действующему веществу.

Учеты пораженности растений картофеля фитофторозом проводили от даты проявления болезни до отмирания листьев через каждые 7-10 дней по шкале Британского микологического общества (James W.C, 1972). На основе учетов пораженности ботвы в поле вычисляли площадь под кривой развития фитофтороза и потери урожая с помощью компьютерной программы «Потери». При уборке урожая оценивали урожайность и товарность клубней (Кузнецова М.А., 2006).

Полученный экспериментальный материал подвергался математической обработке методом статистического анализа при 95% уровне достоверности (Доспехов Б.А., 1985).

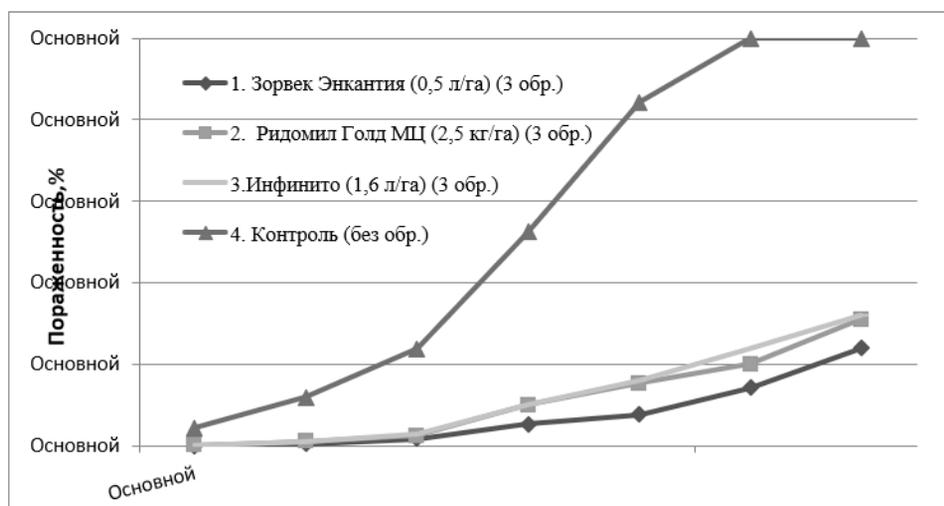
Результаты

По результатам оценки было показано, что все испытываемые препараты проявили достаточно высокую защитную активность после нанесения на растения (табл.1). Вместе с тем, наиболее продолжительным сроком сохранения фунгицидной активности против *P.infestans* на растениях картофеля отличался препарат Зорвек Энкантия. На 15 суток эффективность всех испытываемых препаратов снижалась, однако, Инфинито и Ридомил Голд МЦ достоверно уступали по эффективности защиты препарату Зорвек Энкантия (табл.1). Таким образом, полученные в лабораторных условиях результаты опытов показали высокую эффективность препарата Зорвек Энкантия, применяемого в дозе 0,5 л/га в защите картофеля от фитофтороза.

Таблица 1 - Изменение фунгицидной активности испытываемых препаратов в течение 20 суток после нанесения на растения картофеля сорта Аризона, ВНИИФ

Варианты	Продолжительность действия препаратов на растениях картофеля											
	1		5		7		10		15		20	
	Некр./лист	%	Некр./лист	%	Некр./лист	%	Некр./лист	%	Некр./лист	%	Некр./лист	%
Контроль (Н,О)	16,2	100	16,8	100	16,4	100	20,0	100	16,2	100	18,4	100
Зорвек Энкантия (0,5 л/га)	0	0	0	0	0		0,4	2,0	0,8	4,9	6,6	35,8
Ридомил Голд МЦ (2,5 кг/га)	0	0	0	0	0,4	2,4	1,2	6,0	2,0	12,3	7,2	39,1
Инфинито (1,6 л/га)	0	0	0	0	0,4	2,4	1,4	7,0	1,6	9,9	8,2	44,6
НСР _{0,99}					2,1		2,3		3,4		3,1	

Рис. 1 - Динамика фитофтороза картофеля в сравниваемых вариантах опыта, сорт Аризона, ВНИИФ, Раменская Горка, 2021г.



Высокая восприимчивость к фитофторозу сорта Аризона и сложившиеся в 2021 году в Московской области погодные условия способствовали эпифитотийному развитию болезни. Первичное проявление фитофтороза было отмечено во второй декаде июля в контроле (без обработок). В первой декаде июня и третьей декаде июля температура воздуха превышала средние значения многолетних величин и сопровождалась существенным выпадением осадков. В таких условиях во второй декаде августа пораженность контрольных растений превышала 50%, а в третьей декаде августа – наблюдали полную их гибель (рис.1). На защищенных фунгицидами делянках фитофтороз появился на 10 суток позже, чем в контроле, и в дальнейшем, в течение всего вегетационного сезона, наблюдалось достоверное сдерживание его развития (рис. 1).

В вариантах с препаратами Зорвек Энкантия (0,5 л/га) (1 вар.), Ридомил Голд МЦ (2,5 л/га) (2 вар.) и Инфинито (1,6 л/га) (3 вар.), площадь под кривой (AUDPC), описывающая динамику развития болезни на ботве составила: 1 вар. – 334,1ед.; 2 вар. – 446,2 ед.; 3 вар. – 449,1ед.; в контроле (без обр.) – 2273,1 ед., $HC_{P0,95} = 68,6$. Биологическая эффективность защиты картофеля от фитофтороза составила: 1 схема – 85,3%; 2 схема – 80,4%; 3 схема – 80,2% (рис.2).

Прибавка урожая, по сравнению с контролем, составила: 1 схема – 289,2 ц/га, 2 схема – 280,5 ц/га, 3 схема – 280,3 ц/га; товарность клубней в вариантах повышена на 37% (рис.3).

Рис. 2 - Площадь под кривой, описывающей динамику развития фитофтороза (AUDPC), (ед.) в сравниваемых вариантах опыта, ($HC_{P0,95}=68,6$), (сорт Аризона, ВНИИФ, 2021г.). Биологическая эффективность защиты картофеля от фитофтороза по вариантам:

1 схема – 85,3%; 2 схема – 80,4%; 3 схема – 80,2%.

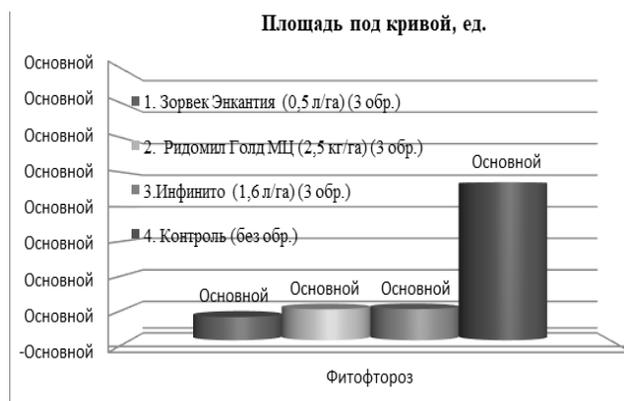
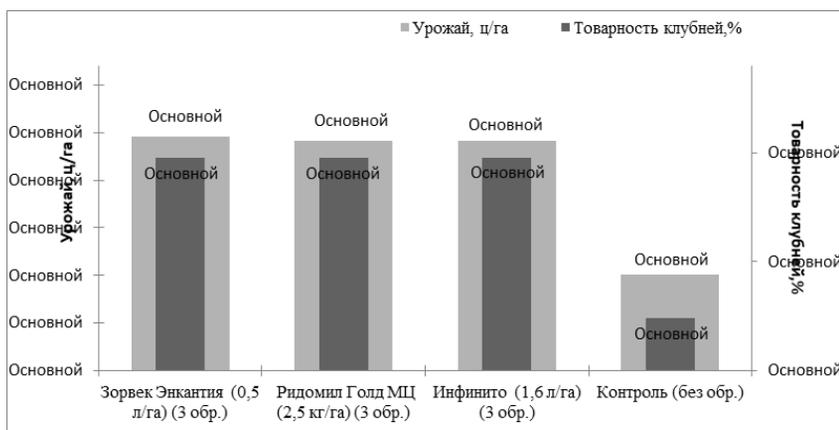


Рисунок 3 - Урожайность ($HC_{P0,95}=17,2$) и товарность ($HC_{P0,95}=1,6$) клубней картофеля (сорт Аризона, ВНИИФ, 2021г.).



Таким образом, испытуемые препараты показали высокую эффективность в снижении вредоносности болезни, по сравнению с контролем. Вместе с тем, применение препарата Зорвек Энкантия в дозе 0,5 л/га оказалось наиболее эффективным, по сравнению с эталонными системными препаратами Ридомил Голд МЦ (2,5 кг/га) и Инфинито (1,6 л/га). Применение Зорвека Энкантия в дозе 0,5 л/га позволило получить высокий уровень защиты от фитофтороза и, соответственно, обеспечить более высокий урожай картофеля, его товарность и качество.

Список литературы

1. Кузнецова М.А. Защита картофеля. / Защита и карантин растений (Приложение). - 2007. - № 5. - С. 1 - 42.
2. Statsyuk N.V., Semina Yu.V., Perez F.G.M., Larsen M., Kuznetsova M.A., Kozlovskaya I.N., Morozova E.V., Deahl K.L., Grunwald N.J. Characterization of russian

Phytophthora infestans populations: Dna fingerprinting and SSR analysis / PPO-Special Report. 2014. № 16. С. 255-266.

3. Филиппов А.В., Кузнецова М.А., Рогожин А.Н. Как сохранить чувствительность возбудителя фитофтороза картофеля к фунгицидам. / Картофель и овощи. 2016. № 4. С. 26-29.
4. James W.C., Shih C. S., Hodson W.A. and Callbeck L.C. The quantitative relationship between late blight of potato and loss in tuber yield. / Phytopathology. - 1972. - No. 62. - P. 92-96.
5. Кузнецова М.А. Болезни картофеля при хранении // Защита и карантин растений. - 2006. - № 10. - С. 37 - 44.
6. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) - М.: Агропромиздат, 1985. - 351 с.

К ВОПРОСУ ОБ ИЗУЧЕНИИ ФЕНОМЕНА «ПЛАТЫ» ЗА ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ У ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

Насонов А.И., Якуба Г.В.

ФГБНУ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар

«Плата» за приспособленность (англ. fitness costs) – физиологические затраты, которые несёт организм, чтобы приобрести способность или приспособленность к конкретным условиям среды, например, устойчивость к токсическому действию пестицида (фунгицида). Феномен, достаточно широко изучаемый в связи с антибиотикорезистентностью опасных для человека бактерий и имеющий важнейшее значение в сельском хозяйстве для регуляции устойчивости к фунгицидам у фитопатогенных грибов.

Проблема «платы» за приспособленность организма обусловлена естественными эволюционными процессами, происходящими в популяциях. С общебиологической точки зрения приспособленность способствует не просто выживанию организма, а его репродуктивному потенциалу, возможности оставить как можно больше потомства. Известно, что отбор воздействует на популяцию одновременно в нескольких направлениях, а его результат зависит от соотношения интенсивности разных векторов отбора и контротбора. Итогом его многонаправленного действия в пределах ареала является поддержание в разнообразном состоянии и одновременно в относительной стабильности генофонда популяции. При этом часть её наследственной изменчивости, которая определяет появление менее приспособленных к данным условиям особей, является генетическим грузом.

Воздействие фунгицидов создает экстремальные условия обитания грибов, устойчивость которых проявляется как защитная функция организма против неблагоприятного воздействия факторов окружающей среды. Эта защита снижает скорость гибели, но может «оплачиваться» снижением эффективности других функций. Наличие инварианта жизненного цикла и жесткой взаимосвязи между отдельными параметрами приводит к тому, что повышение приспособленности в связи с изменением одного признака влечет за собой «расплату», проявляющуюся в изменении другого признака и снижении приспособленности этих же организмов в несколько иных условиях. Выживание в субтоксичной среде может привести к сни-

жению адаптивности в целом, а, впоследствии, к вытеснению таких особей из популяции при изменении условий, то есть селекция устойчивого генотипа снизит приспособленность к другим экстремальным факторам окружающей среды [1]. На этом эффекте основана практическая значимость данного феномена.

В связи с относительной «молодостью» данного научного направления некоторые методологические аспекты имеют дискуссионный характер в части выбора изучаемых характеристик и их значимости в приспособленности организма.

Феномен изучают как в полевых условиях, так и в лабораторных. Полевые испытания позволяют измерить инклюзивную приспособленность во временном масштабе эксперимента, обычно в течение вегетационного периода, а часто и в течение нескольких лет [2]. Однако в данном случае невозможно контролировать условия среды, например, температуру. Кроме того, в полевых испытаниях либо полагаются на естественную инфекцию, либо формируют искусственный инфекционный фон с использованием полевых изолятов с различным генетическим бэкграундом [3].

При тестировании микромицетов на растениях в теплице или камере с контролируемой средой можно регулировать большее количество условий, а также использовать генетические линии фитопатогена: моноспорные изоляты, изогенные трансформанты или мутанты [4]. Эти эксперименты позволяют изучать такой важный признак, как патогенность, но они не всегда охватывают весь жизненный цикл, например, состояние перезимовки.

Эксперименты *in vitro*, предполагающие работу с чистой культурой микроорганизма, позволяют тщательно контролировать условия роста и часто тестировать большее количество штаммов/изолятов, повторов или различных условий. Однако измерения ограничены определенными компонентами приспособленности, такими, как рост гиф или образование конидий. В данных условиях невозможно измерить патогенность или толерантность к защитным механизмам растения-хозяина у микромицета; богатая

среда для выращивания может компенсировать некоторые «штрафы» за приспособленность. Относительная приспособленность может определяться температурой, питательной средой и временем измерения, а также факторами, зависящими от осмотического или окислительного стресса [5]. Однако реакция организма в условиях *in vitro* может отличаться от таковой в естественных условиях. Исследования, подтверждающие концепцию, могут использовать экстремальные условия для максимизации «штрафных» последствий, которые, однако, могут никогда не иметь место в полевых условиях [6]. Изолированные органеллы или ферменты могут указывать на механизм «платы» за приспособленность, но не степень его выраженности на уровне организма, кроме этого, свойства ферментов могут отличаться в лабораторных и нативных условиях [7].

Перспективным методом при изучении феномена «платы» за приспособленность являются тесты по конкурентному исключению. Анализ роста отдельных изолятов, как правило, может выявить только значительное снижение вегетативного роста или образования бесполок спор, тогда как опыты по конкурентному вытеснению дают более высокую чувствительность в выявлении различий в приспособленности. Обзор исследований на бактериях показывает, что индивидуальные различия в скорости роста должны быть > 5 % на поколение, чтобы их можно было обнаружить, тогда как конкурентные анализы могут обнаруживать различия в 1 % или даже 0,1%, в зависимости от методов обнаружения, используемых для количественной оценки частот генотипов [8]. Кроме того, для патогенов растений уровни агрессивности могут быть различными при единичных или смешанных инфекциях, поэтому конкурентные анализы более информативны в отношении влияния резистентности на патогенность, так как в полевых условиях инфекции часто монокомпонентны [3]. В конкурентных анализах могут использоваться пары изолятов или более сложные смеси как с равным соотношением инокулума, так и с различающимся в широком диапазоне. Важным моментом в таком подходе является возможность изучения изменения приспособленности непосредственно в системе взаимодействия «патоген – растение-хозяин».

Таким образом, эксперименты по конкурентному вытеснению позволяют получить интегральную информацию по приспособленности организма в условиях максимально приближенных к естественным: патоген взаимодействует с растением-хозяином, известен его генетический

бэкграунд, абиотические условия контролируются, и индивидуум находится во взаимодействии с другими особями популяции.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МФИ-20.1/98

1. Моисеенко Т.И. Адаптация и антропогенная эволюция животных в условиях техногенных провинций // Современные проблемы состояния и эволюции таксонов биосферы (под ред. Ермакова В.В. М.: ГЕОХИ РАН, 2017. с. 7–14.
2. Leroux P., Gredt M., Remuson F., Micoud A., Walker A. S. Fungicide resistance status in French populations of the wheat eyespot fungi *Oculimacula acuformis* and *Oculimacula yallundae* // *Pest Manag. Sci.* 2013. Vol. 69. P. 15–26. <https://doi.org/10.1002/ps.3408>
3. Zhan J., McDonald B.A. Experimental Measures of Pathogen Competition and Relative Fitness // *Annu.Rev. Phytopathol.* 2013. Vol. 51. P. 131–53. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102302>
4. Scalliet G., Bowler J., Luksch T. et al. Mutagenesis and Functional Studies with Succinate Dehydrogenase Inhibitors in the Wheat Pathogen *Mycosphaerella graminicola* // *PLOS ONE.* 2012. 7:e35429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035429>
5. Billard A., Fillinger S., Leroux P., Lachaise H., Beffa R., Debieu D. Strong resistance to the fungicide fenhexamid entails a fitness cost in *Botrytis cinerea*, as shown by comparisons of isogenic strains // *Pest Manag. Sci.* 2012. Vol. 68. P. 684–91. <https://doi.org/10.1002/ps.2312>
6. Lalève A., Fillinger S., Walker A. S. Fitness measurement reveals contrasting costs in homologous recombinant mutants of *Botrytis cinerea* resistant to succinate dehydrogenase inhibitors // *Fungal Genet. Biol.* 2014. Vol. 67. P. 24–36. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2014.03.006>
7. Meini M. R., Tomatis P. E., Weinreich D. M., Vila A. J. Quantitative Description of a Protein Fitness Landscape Based on Molecular Features // *Mol. Biol. Evol.* 2015. Vol. 32. P. 1774–87. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv059>
8. Andersson D. I., Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? // *Nat. Rev. Microbiol.* 2010. Vol. 8. Vol. 260–71. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2319>

МЕТОДЫ ИММУНОАНАЛИЗА ДЛЯ ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА *FUSARIUM* В РАЗЛИЧНЫХ СУБСТРАТАХ

Лебедин Ю.С.¹, Антропова А.Б.^{1,2}, Майгурова В.Н.¹, Колоколова М.К.¹

¹ООО «ХЕМА», Москва

²Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, Москва

Виды рода *Fusarium* широко распространены в природе. Они присутствуют в разных типах почв, в воздухе, на растительных и животных субстратах, среди них есть энтомопатогены и микопаразиты [1]. Род *Fusarium* включает виды грибов, разнообразные по типу питания (сапротрофы, биотрофные патогены, эндофиты) и способности образовывать вторичные метаболиты, в том числе высокотоксичные [2]. Особое внимание исследователей всего мира привлекают патогенные свойства видов *Fusarium*. Хорошо известно, что фузариоз зерновых культур может привести к потере до 50% зерновой продукции [3]. Виды рода *Fusarium* способны также инфицировать различные органы и ткани человека и животных [1, 4, 5]. Успех мероприятий по защите зерновых культур, а также терапевтических мер в огромной степени зависит от своевременной и качественной идентификации возбудителя. Методы иммуноанализа широко применяются в диагностических и исследовательских целях, они доступны практически любой лаборатории и позволяют получать результаты в интервале от 10 мин до 4 часов в зависимости от выбранного метода и тест-системы. Тем не менее спектр доступных тест-систем, направленных на выявление микоантигенов, крайне ограничен. Сложности разработки таковых во многом связаны с огромным биоразнообразием грибов и высокой степенью перекрестной реактивности антител, получаемых против антигенов грибов. Осложняет процесс разработки и значительная вариабельность антигенного состава микромицетов в зависимости от условий культивирования (субстрат, температура, влажность, освещенность и т.д.). В связи с вышесказанным целью настоящей работы - разработать и апробировать иммуноферментные (ИФА) и иммунохроматографические (ИХА) тест-системы для выявления антигенов микромицетов рода *Fusarium* в различных субстратах.

В работе использовали штаммы грибов рода *Fusarium*, выделенные из почвы, фитопатогенные штаммы, клинические изоляты, полученные из коллекций ВКМ, ФГБНУ ВИЗР, МГУ им. М.В.Ломоносова, ПСПБГМУ им. акад. И.П.Павлова. Для истощения антител и оценки их специфической активности использовали экстракты культур *Alternaria spp.*, *Ascochyta spp.*, *Aspergillus spp.*, *Botrytis spp.*,

Candida spp., *Cladosporium spp.*, *Geomyces spp.*, *Hansenula polymorpha*, *Microdochium spp.*, *Microspora spp.*, *Mucor spp.*, *Penicillium spp.*, *Phoma spp.*, *Phytophthora spp.*, *Pythium spp.*, *Rhizopus spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Thamnidium*, *Trichoderma spp.*, *Trichophyton spp.*, *Trichosporon asahii*, *Ustilago spp.*

Антитела против антигенов микромицетов получали путем иммунизации лабораторных животных (кролики, мыши) гомогенатами культур грибов, выращенных в жидкой картофельно-глюкозной среде. Поликлональные кроличьи антитела (пкАТ) выделяли аффинной адсорбцией на колонках с иммобилизованными антигенами с последующим истощением на колонках с гомогенатами грибов других родов. Получали моноклональные мышинные антитела (мкАТ), имеющие минимальный перекрест с антигенами грибов других родов.

В процессе анализа специфичности полученных антител было установлено, что в различных субстратах спектр и соотношение продуцируемых грибом антигенов сильно варьирует. Маркерные антигены были условно названы "С" (наиболее активно продуцируемый при культивировании гриба на питательной среде) и "G" (наиболее активно продуцируемый на зерновых субстратах).

В результате были сконструированы тест-системы по типу сэндвичного иммуноанализа с использованием пар антител, наиболее чувствительно и специфично распознающие "С" и "G" антигены грибов рода *Fusarium*.

На основе пары мкАТ и пакАТ, распознающих «G» антигены, сконструирована тест-система для количественного определения антигенов грибов рода *Fusarium* методом ИФА и «быстрый» тест для качественного выявления антигенов методом ИХА.

Установлено, что оба варианта иммуноанализа эффективно и чувствительно распознают виды *Fusarium*, входящие в комплексы *F.avenaceum*, *F.chlamydosporum*, *F.dimerum*, *F.fujikuroi*, *F.graminearum*, *F.incarnatum/equiseti*, *F.sambucinum*, *F.oxysporum*, *F.solani*, *F.tricinatum*. Выбранные для иммуноанализа пары мкАТ и пакАТ не давали перекрестной реакции со всеми изученными таксономически-

ми группами грибов, включая морфологически близкие виды рода *Microdochium*.

Апробацию тест-систем проводили путем анализа чистых культур грибов, а также субстратов, зараженных грибами рода *Fusarium*.

Методом ИФА было проанализировано 10 образцов *Fusarium* spp., выращенных на картофельно-глюкозном агаре, 10 образцов пшеницы, риса и листьев мятлика лугового, зараженных *Fusarium* spp. Фрагменты листьев мятлика лугового инокулировали с помощью агаровых блоков с мицелием гриба. Зерно пшеницы и риса инокулировали водной суспензией гриба [6].

С целью сравнения результатов одновременно методами ИФА и ИХА было проанализировано 14 образцов озимой или яровой пшеницы с подтвержденным микробиологическими методами поражением *Fusarium* spp.

Методом ИФА было проанализировано 23 образца клинического материала (бронхоальвеолярная жидкость,

смыв из синусов, фрагменты резерцированных тканей или биоптаты).

Установлено, что все варианты тест-систем способны выявлять антигены грибов рода *Fusarium* в исследуемом материале (табл. 1, 2). Анализ клинических изолятов продемонстрировал совпадение результатов иммуноанализа с микробиологическими методами. Сравнение двух методов продемонстрировало полное совпадение результатов ИХА и ИФА, за исключением образцов 2, 3 и 4, которые содержат невысокое количество искомого антигена - ниже предела обнаружения для ИХА (табл. 2).

Таким образом, разработанные тест-системы способны выявлять представителей рода *Fusarium* в различных субстратах, что может быть использовано в области клинической диагностики, фитопатологии, а также в области контроля сельскохозяйственных культур и контроля пищевых продуктов.

Таблица 1. Выявления антигенов рода *Fusarium* (ед/мл) в чистых культурах и инокулированных субстратах.

Виды <i>Fusarium</i>	КГА		пшеница		рис		мятлик	
	С	G	С	G	С	G	С	G
<i>F. graminearum</i> MFG 58895	2.53	2352.58	0.613	6673.87	1.22	3593.94	1.23	3475.19
<i>F. proliferatum</i> MFG 60309	>>*	0	9.65	4726.35	>>	4934.33	51.04	207.63
<i>F. lateritium</i> MFG 80004	>>	0	2.24	12430.8	4.57	5876.37	244.88	303.65
<i>F. redolens</i> MFG 80002	>>	0.01	1.85	3956.27	33.02	3600.71	>>	912.21
<i>F. sambucinum</i> MFG 80568	2.64	2031.54	0.517	7405	0.9	5568.69	2.01	3020.61
<i>F. cerealis</i> MFG 37032	8.86	0	0.47	12894.1	1.08	5686.15	0.603	2231.27
<i>F. oxysporum</i> MFG 126901	535.92	0.1	3.31	3711.54	16.13	9525.56	3.37	2577.63
<i>F. equiseti</i> MFG MFG 60823	4.52	3925.39	1.89	4067.21	2.58	11909.7	3.68	3411.64
<i>F. verticillioides</i> MFG 59009	>>	0	5.53	11423.4	4.86	8482.31	9.26	730.43
<i>F. heterosporum</i> MFG 58442	76.24	0	2.21	7690.19	24.09	4607.7	8.31	0
>>* – высокое содержание целевого антигена в образце, которое не поддается обсчету								

Таблица 2. Выявления антигенов рода *Fusarium* (ед/мл) в образцах озимой и яровой пшеницы.

№	Область, район	Культура	Год урожая	ИФА		ИХА	
				антиген, G	антиген	антиген	G
1	Ростовская обл	оз. пшеница	2020	285.7	+		
2	Белгородская обл	оз. пшеница	2020	9.74	-		
3	Воронежская обл, Аппинский р-н	оз. пшеница	2020	6.46	-		
4	Курская обл, Коньшëвский р-н	оз. пшеница	2020	16.44	-		
5	Курская обл, Коньшëвский р-н	оз. пшеница	2020	140	+		
6	Курская обл, Поньровский р-н	оз. пшеница	2020	127.81	+		
7	Липецкая обл, Добринский р-н	оз. пшеница	2020	372.3	+		
8	Тамбовская обл, Никифоровский р-н	оз. пшеница	2020	92.07	+		
9	Тамбовская обл, Сосновский р-н	оз. пшеница	2020	243.28	+		
10	Ставропольский край	оз. пшеница	2021	18894	+		
11	Ставропольский край	оз. пшеница	2021	1813	+		
12	Ставропольский край	оз. пшеница	2021	586,2	+		
13	Амурская обл	яр. пшеница	2021	6502	+		
14	Амурская обл	яр. пшеница	2021	6302	+		

Список литературы

1. Leslie, J.F. and Summerell, B.A. The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing, Oxford, 2006. 388 p. <https://doi.org/10.1002/9780470278376>
2. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М. Биоразнообразие и ареалы основных токсинопродуцирующих грибов рода *Fusarium* // Биосфера. 2014. 6(1):36-45
3. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К.В. Фузариоз зерновых культур // Приложение к журналу Защита и карантин растений. 2011. 5: 1- 52
4. Nucci F., Nouér S.A., Capone D., Anaissie E., Nucci M. Fusariosis // *Semin Respir Crit Care Med*. 2015 36(5):706-14. doi: 10.1055/s-0035-1562897
5. Batista B.G., de Chaves M.A., Reginatto P., Saraiva O.J., Fuentefria A.M. Human fusariosis: An emerging infection that is difficult to treat // *Rev Soc Bras Med Trop*. 2020. V.53: e20200013. doi: 10.1590/0037-8682-0013-2020
6. Лебедин Ю.С., Орина А.С., Гаврилова О.П., Гагкаева Т.Ю., Майгурова В.Н., Петухов П.А. Применение аналитических методов для выявления критических пределов инфицирования зерна грибами рода *Fusarium* // *Аграрная наука*. 2021. 344(1): 92-97

ЭНДОФИТЫ *ABIES SIBIRICA* LEDEB. И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ БИОКОНТРОЛЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ РОДА *CORINECTRIA*

^{1,2}Литовка Ю.А., ^{1,2}Павлов И.Н., ¹Тимофеев А.А., ^{1,2}Сидорова А.А., ^{1,2}Шарыпова Д.Р., ^{1,2}Джалолов И.И.

¹Институт леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск

²Сибирский государственный университет науки и технологий им. академика М.Ф. Решетнева, Красноярск

Стремительные процессы усыхания хвойных лесов Сибири при отсутствии значимых погодных аномалий (сильные засухи, затопление) и без видимого предварительного ослабления деревьев свидетельствует о наличии длительных латентных процессов внутри растений, которые способствуют их колонизации фитопатогенами, в том числе ранее не выявленными [1]. В настоящее время на территории Средней Сибири нами выделен новый фитопатогенный грибок, вызывающий масштабные некрозно-раковые поражения *A. sibirica* [2]. В лабораторных условиях была показана фитопатогенность выделенных штаммов в отношении семян *Picea abies* (L.) Karst., проростков и сеянцев *A. sibirica*. По результатам морфолого-культуральных и молекулярно-генетических исследований штаммы, изолированные из язвенных поражений ствола и ветвей пихты сибирской, идентифицированы нами как представители рода *Corinectria Gonzalez & Chaverri* [2], который недавно был обособлен от рода *Neonectria Wollenw.* и представлен пока небольшим количеством видов [3]. Выявленные нами морфологические и молекулярно-генетические отличия сибирских штаммов от уже известных видов позволяют предположить наличие в Сибирском регионе новых для науки видов *Corinectria*. Штаммы хранятся в коллекции чистых культур лаборатории лесных культур, микологии и фитопатологии Института леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН (Красноярск, Россия).

Древостои *Abies sibirica* Ledeb. подвержены интенсивному биотическому воздействию как в силу анатомо-морфологических и физиологических особенностей растений, так и климатических изменений, которые являются триггером массового усыхания темнохвойных лесов. Однако несмотря на высокую чувствительность к влиянию факторов окружающей среды *A. sibirica* занимает обширные пространства и достаточно хорошо возобновляется под пологом леса. Это свидетельствует о наличии долговременной устойчивости, механизмы которой вырабатываются растением в процессе коэволюции с возбудителями болезней. Важнейшим механизмом устойчивости является наличие эндофитных микроорганизмов, которые обитают в растительных тканях в течение всего или части жизненного цикла и могут оказывать влияние на состояние и развитие болезни [4]. Особенностью эндофитного образа жизни является способность микроорганизмов переходить от бессимптомного к сапротрофному / патогенному режиму

при изменении внешних условий. Типы взаимодействия растения с эндофитами варьируют от мутуализма до патогенности в зависимости от генотипа растения и микроорганизма, условий окружающей среды, динамики взаимодействия в биоме растения [5].

Исследование эндофитов древесных пород невозможно без привлечения современных молекулярно-генетических методов, базирующихся на выделении тотальной ДНК и последующем ее анализе (метабаркодинг и метагеномика). По результатам проведенного нами исследования древесины *A. sibirica* с выраженными некротическими-язвенными поражениями определена структура микобиоты, представители которой могут играть важную роль как в патогенезе, так и стимулировании защитной реакции на присутствие фитопатогенов.

Регион ITS2 был амплифицирован с помощью праймеров ITS3_KYO2 и ITS4, содержащих адаптерные последовательности (Illumina), линкер и баркод [6]. Секвенирование проводили в ЦКП «Геномика» СО РАН (ИХБФМ СО РАН) на секвенаторе MiSeq (Illumina), используя набор Reagent Kit v3 (2x300, Illumina). Биоинформатическая обработка включала перекрытие парных ридов, фильтрацию по качеству и длине, учет одинаковых последовательностей, отбрасывание синглетонов, удаление химер и получение OTU с помощью алгоритма кластеризации UPARSE/UNOISE. Таксономическая принадлежность последовательностей OTU определялась с помощью SINTAX [7]. В результате прочтения суммарной ДНК с ITS2-ITS4 праймерами были определены консервативные участки длиной не менее 10000 п.н., соответствующие домену Fungi. Биоинформатический анализ данных позволил получить 550 ридов (OTU), со средней длиной 300 п.н. и определенным количеством прочтений для каждого образца.

Помимо метагеномных исследований проводили выделение чистых культур эндофитных и фитопатогенных грибов из образцов древесины с признаками поражения и без таковых [8]. Скрининг потенциальных биоконтрольных агентов среди эндофитов *A. sibirica* для сдерживания развития гриба *Corinectria spp.* проводили методом встречных культур, оценивая радиальную скорость роста фитопатогенов в монокультуре и при совместном культивировании пары патоген-эндофит [9].

По результатам проведенных в древесине *A. sibirica* выявлены наиболее типичные представители микобио-

ты, которым соответствует количество прочтений в сумме более 1 % ридов от их общего числа. Это микоассоцианты насекомых из родов *Geosmithia*, *Graphium*, *Kuraishia*, *Knufia*, *Ophiostoma*, в том числе фитопатогенные; энтомопатогены *Beauveria*, *Cordyceps*; фитопатогены *Neonectria*, *Valsa*, *Botryotinia*, *Taphrina*; эндофиты и переходные формы – *Aureobasidium*, *Cladophialophora*, *Coniochaeta*, *Leptodontidium*, *Lophiostoma*, *Mycosphaerella*, *Pestalotiopsis*, *Phaeomoniella*, *Phialophora*, *Phoma*, *Pleonectria*, *Rhodotorula*, *Sydowia*, *Thyronectria*, *Toxicocladosporium*.

Была сформирована коллекция чистых культур эндофитов пихты сибирской, представленная следующими видами: *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Aureobasidium pullulans* (de Bary) G. Arnaud, *Didymella macrostoma* (Mont.) Qian Chen & L. Cai, *Leptodontidium beauverioides* (de Hoog) de Hoog, *Phialophora fastigiata* (Lagerb. & Melin) Conant, *Pseudocamarosporium brabeji* (Marinc., M.J. Wingf. & Crous) Crous, *Sydowia polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll., *Thyronectria cucurbitula* (Tode) Jaklitsch & Voglmayr. Наибольшая частота встречаемости в образцах древесины отмечена для видов *T. cucurbitula*, *S. polyspora* и *A. alternata*. Также в значительных количествах в образцах древесины *A. sibirica* обнаруживался вид *Pseudotryblidium neesii* (Körb.) Rehm, который является нелихенизированным специфическим сапротрофом коры *Abies*.

Антифунгальную активность эндофитов исследовали методом встречных культур в динамике в течение 7-10 сут в зависимости от скорости роста фитопатогенов. Скрининг потенциальных биоконтрольных агентов проводили среди штаммов *T. cucurbitula*, которые с высокой частотой встречаемости были изолированы из здоровой древесины. Установлено, что большинство исследуемых эндофитных грибов существенно замедляют ростовые параметры штаммов *Corinectria* spp. из различных морфотипов с высокой степенью фитопатогенности – их скорость роста уменьшилась в 1,9-2,7 раза по сравнению с монокультурой патогена. В редких случаях отмечено замедление роста *T. cucurbitula*, что свидетельствует о различном характере взаимодействия в паре патоген-эндофит. Эндофитные штаммы *T. cucurbitula* существенно отличались по степени антифунгальной активности, показатели которой варьировали в пределах 24-69 %. Отобрана группа эндофитов, которые с высокой степенью активности (более 50 %) угнетали развитие подавляющего количества фитопатогенных штаммов *Corinectria* spp., выделенных из язвенных поражений *A. sibirica* и вызывающих серьезные поражения тест-растений в условиях *in vitro*.

Таким образом, культивируемые штаммы-эндофиты пихты сибирской могут обладать серьезным сдерживающим потенциалом развития нового опасного патогена *Corinectria* spp., а отобранные штаммы *T. cucurbitula* с высокой антифунгальной активностью заслуживают более детального изучения в качестве потенциальных биоконтрольных микроорганизмов.

Список литературы

1. Pavlov I.N. Biotic and Abiotic Factors as Causes of Coniferous Forests Dieback in Siberia and Far East. Contemporary Problems of Ecology. 2015. 8 (4). P. 499–515.
2. Pavlov I.N., Vasaitis R., Litovka Y.A., Stenlid J., Jankovsky L., Timofeev A.A., Menkis A. Occurrence and pathogenicity of *Corinectria* spp. – an emerging canker disease of *Abies sibirica* in Central Siberia // Scientific Reports. 2020. 10. P. 5597.
3. Gonzalez C.D., Chaverri P. *Corinectria*, a new genus to accommodate *Neonectria fuckeliana* and *C. nonstrita* sp. nov. from *Pinus radiata* in Chile. Mycol. Progress. 2017. V. 16. P.1015-1027.
4. Terhonen E., Blumenstein K., Kovalchuk A., Asiegbu F.O. Forest tree microbiomes and associated fungal endophytes: Functional roles and impact on forest health. Forests. 2019. 10 (1). P. 42.
5. Hardoim P.R. van Overbeek L.S., Berg G., ... Sessitsch A. The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2015. 79 (3). P. 293-320.
6. Fadrosch D.W., Ma B., Gajer P., Sengamalay N., Ott S., Brotman R.M., Ravel J. Microbiome. 2014. 2(1): 6. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform.
7. Edgar R.C. UNOISE2: Improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon reads. 2016. bioRxiv doi:10.1101/081257.
8. Martins F., Pereira J.A., Bota P., Bento A., Baptista P. Fungal endophyte communities in above- and belowground olive tree organs and the effect of season and geographic location on their structures // Fungal Ecology 20. 2016. P. 193-201.
9. Costa D., Tavares R.M., Baptista P., Lino-Neto T. Cork Oak Endophytic Fungi as Potential Biocontrol agents Against *Biscogniauxia mediterranea* and *Diplodia corticola* // J. Fungi. 2020. 6. P.287.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ОБЕСЦВЕЧИВАНИЯ ПОБЕГОВ БОДЯКА ПОЛЕВОГО (*CIRSIIUM ARVENSE*) И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

Лукина Е.Г.^{1,2}, Гомжина М.М.², Далинова А.А.², Дубовик В.Р.², Берестецкий А.О.²

¹Санкт-Петербургский государственный университет

²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

Микроскопические грибы представляют особый интерес как продуценты разнообразных веществ, называемых вторичными метаболитами. Обладая широким спектром биологической активности, данные соединения могут стать основой для разработки лекарств и биопестицидов [1].

В настоящее время существует тенденция к внедрению в практику сельского хозяйства экологически безопасных средств для борьбы с сорной растительностью – биогербицидов (препаратов на основе живых клеток микроорганизмов) и биорациональных гербицидов (препаратов,

действующим началом которых являются природные фитотоксины) [2]. Одним из примеров биогербицидов для борьбы с двудольными сорными растениями являются препараты *Phoma*™ и *Bio-Phoma*™, зарегистрированные в Канаде и США в 2011 и в 2012 гг. соответственно на основе гриба *Didymella macrostoma* (Mont.) Qian Chen & L. Cai (синоним *Phoma macrostoma* Mont.) и его фитотоксинов [3]. Изоляты данного микроорганизма были выделены из хлоротичных и некротичных листьев растений бодяка полевого (*Cirsium arvense* (L.) Scop.), найденных на территории Ка-

нады, и идентифицированы исключительно по морфолого-культуральным признакам [4,5]. В результате оценки патогенности изолированных штаммов *D. macrostoma* было установлено, что они обладают биогербицидной активностью в отношении двудольных сорных растений, а также являются продуцентами соединений семейств макроцидинов и макрооксазолов, обладающих фитотоксической и антимикробной активностью [4,5,6].

В окрестностях Санкт-Петербурга нами были найдены обесцвеченные побеги бодяка полевого. Из таких растений с симптомами поражения в чистую культуру было выделено несколько изолятов гриба, которые предварительно по морфолого-культуральным признакам были идентифицированы как *D. macrostoma*. Цель работы состояла в том, чтобы идентифицировать изоляты выделенного микромицета и оценить его перспективность в качестве агента для борьбы с *C. arvense*.

Идентификацию изолятов проводили на основании анализа таксономически информативных локусов ДНК: ITS, LSU, участков генов TUB и RPB2. Полученные последовательности выравнивали с помощью программы ClustalX 1.8. Построение филогенетических деревьев осуществляли с помощью метода максимального правдоподобия и принципа максимальной экономии с использованием программного обеспечения *Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 10 (MEGA X)*, а также метода Байесовской статистики (*Bayesian inference – BI*) с использованием программы Mr. Bayes v. 3.2.1, интегрированной в платформу *Armadillo v. 1.1*.

С целью оценить патогенность выделенного гриба в отношении бодяка полевого были проведены эксперименты по инфицированию ювенильных растений в фазе розетки (стадия 3–4 настоящих листьев). Инокуляцию осуществляли внесением мицелиальной (0.1 г/мл 6-суточной биомассы) суспензии в почву (100 мл/500 мл почвы). Учеты симптомов поражения и реинокуляцию гриба проводили еженедельно в течение месяца.

С целью изучения продуцируемых грибом вторичных метаболитов было проведено культивирование нескольких изолятов на картофельно-глюкозном бульоне (отвар 200 г картофеля на 1 л дистиллированной воды, глюкоза 20 г/л) в стационарных условиях. Метаболиты гриба извлекали из культурального фильтрата этилацетатом. Экстракты фракционировали с помощью метода хроматографии на обращенно-фазовом силикагеле. Очистку метаболитов проводили методом препаративной ВЭЖХ. Идентификацию соединений осуществляли с помощью методов масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии. Фитотоксическую активность соединений оценивали методом надколотых листовых дисков в отношении *C. arvense* и *Triticum aestivum* L.

Таблица 1. Спектр биологической активности выделенных метаболитов

Соединение	Фитотоксическая активность*		Антибактериальная активность			
	<i>Cirsium arvense</i> ¹	<i>Triticum aestivum</i> ²	МИС, мкг/мл			
			<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Dickeya dianthicola</i> D1	<i>Clavibacter michiganensis</i>
Макроцидин А	3.1±0.6	1.6±0.7	> 512	512	> 512	> 512
Макроцидин Z	3.8±1.3	1.9±0.8	> 512	512	> 512	512

* – данные представлены со значениями стандартного отклонения

1 – диаметр некроза, мм; 2 – длина некроза/хлороза, мм

в концентрации 2 мг/мл. Антибактериальную активность исследовали в отношении модельных объектов *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn, *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers, а также в отношении фитопатогенных бактерий *Dickeya dianthicola* (Samson) и *Clavibacter michiganensis* (Smith 1910) Davis et al. 1984. Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) мажорных метаболитов изучали путем последовательных разведений в бульоне Мюллера-Хинтона (Oxoid, Великобритания) с диапазоном концентраций от 64 до 512 мкг/мл. Энтомотоксическую активность веществ исследовали инъекционным методом в отношении *Galleria mellonella* L. в концентрации 10 мкг/личинка. Токсичность выделенных соединений оценивали в отношении *Paramecium caudatum* Ehrenberg в концентрации 100 мкг/мл.

На филогенетическом дереве, построенном на основании последовательностей четырех таксономически информативных локусов ДНК, исследованные изоляты формировали отдельную монофилитическую кладу, не включавшую в свой состав других видов грибов рода *Didymella*. Таким образом, на основании данных молекулярно-филогенетического анализа, изоляты были идентифицированы как *Didymella* sp.

В результате инокуляции ювенильных растений *C. arvense* мицелиальной суспензией гриба были обнаружены симптомы обесцвечивания. Процент пораженных листьев составил 40.7%±1.8. Из обесцвеченных и бессимптомных растений гриб был реинокулирован в чистую культуру. На основании данных результатов было выдвинуто предположение о том, что *Didymella* sp. является слабым патогеном или эндофитом бодяка полевого.

В составе экстрактов, полученных из культурального фильтрата со среды КГБ, были обнаружены макроцидины и макрооксазолы. В результате фракционирования и очистки экстрактов были выделены два мажорных соединения, которые с помощью методов ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии были идентифицированы как макроцидины А, Z. Данные вещества проявили более высокую фитотоксическую активность в отношении бодяка полевого и вызвали у данного растения образование некротических пятен (3–4 мм в диаметре), тогда как на пшенице наблюдалось развитие небольших по размеру (1.5–2 мм) хлорозов (Таб. 1). Макроцидины проявили слабую антимикробную активность в отношении всех тестируемых бактерий со значением МИК 512 мкг/мл и выше (Таб.1). Также впервые было продемонстрировано, что выделенные соединения не обладали энтомотоксической активностью в отношении *G. mellonella* и не проявили токсичность в отношении *P. caudatum*.

Таким образом, впервые на территории России нами было обнаружено заболевание обесцвечивания побегов *S. arvense* и его предполагаемый возбудитель, микромицет, идентифицированный как *Didymella sp.* Так как в экспериментах по оценке патогенности изученный гриб не вызвал значительных симптомов обесцвечивания у инокулированных растений бодяка полевого, вероятно, *Didymella sp.* не может послужить основой для разработки биогербицида для борьбы с *S. arvense*. В данной работе нами были проведены эксперименты по инфицированию только одним из выделенных изолятов гриба растений бодяка полевого. В будущих исследованиях мы планируем оценить патогенность других изолятов *Didymella sp.* в отношении более широкого спектра двудольных сорных растений.

Фитотоксическая активность макроцидинов в отношении бодяка полевого, слабая антимикробная активность и отсутствие токсичности в отношении беспозвоночных и одноклеточных микроорганизмов указывают на возможность использования данных метаболитов в качестве действующего начала гербицидных препаратов для борьбы с сорными растениями. В дальнейшем мы планируем оценить эколого-токсикологические характеристики макроцидинов.

ФИТОСАНИТАРНЫЙ МОНИТОРИНГ ОСНОВНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ШПИНАТА

Макаренко Е.В.

Санкт-Петербургский государственный аграрный университет
ООО «Инновационный центр защиты растений», Санкт-Петербург - Пушкин

За последние годы в нашей стране всё большее внимание уделяется проблеме здорового питания людей, для решения которой важное значение имеет обеспечение населения овощной продукцией, в том числе зелеными и пряно-вкусовыми овощами. В России в настоящее время введено в культуру более 100 видов указанных растений, среди которых наиболее распространенными являются салат и укроп, а также малораспространенные - шпинат, цикорий салатный, кресс-салат и другие.

Шпинат огородный (*Spinacea oleracea L.*) принадлежит к семейству маревых. Это однолетнее травянистое растение, высотой 25-60 см. Листья молодого растения собраны в розетку, и именно на этой стадии развития шпинат является овощем с мясистыми сочными листьями [1].

В пересчёте на вес шпинат принадлежит к числу овощей, наиболее богатых питательными веществами. Листья шпината являются носителями важных минеральных веществ: Na, K, Ca, Mg; витаминов B1, B2, PP, C, K, E, D, H, сахаров, белков, жиров, органических кислот: яблочной, лимонной и щавелевой. По содержанию йода он занимает первое место среди зеленых овощных культур [2].

В мире производится более 26 млн. тонн шпината в год. Китай является крупнейшим производителем шпината с объемом производства 24 млн. тонн в год. На втором месте США - 323620 тонн в год. В Российской Федерации посевные площади, занятые шпинатом, весьма ограничены.

Ассортимент сортов шпината в России невелик. Сорты и гибриды, допущенные к производству: Виктория, Дольфин РЗ, Жирнолистный, Исролинский, МатАдор, Спейс, Стоик, Спортер.

Одним из направлений селекции при создании новых сортов и гибридов шпината является селекция на устойчивость к болезням. Поэтому целью наших исследований

Список литературы

1. Bills G.F., Gloer J.B. Biologically active secondary metabolites from the fungi // Microbiol Spectrum. 2017. Vol.4(6). P. 1087-1119.
2. Голубев А.С., Берестецкий А.О. Перспективы направления использования биологических биорациональных гербицидов в растениеводстве в России // Сельскохозяйственная биология. 2021. Т. 56 (5). С. 868-884.
3. Morin L. (2020). Progress in Biological Control of Weeds with Plant Pathogens // Annual review of phytopathology. 2020. 58. P. 6.1-6.23.
4. Bailey K.L., Derby J. Fungal isolates and biological control compositions for the control of weeds // US Patent Application Serial No. 60/294475. Filed May 20. 2001.
5. Graupner P.R., Carr A., Clancy E. et al. The macrocidins: novel cyclic tetramic acids with herbicidal activity produced by *Phoma macrostoma* // Journal of Natural Products. 2003. Vol. 66 (12). P. 1558-1561.
6. Kemkuignou B.M., Treiber L., Zeng H., Schrey H., Schobert R., Stadler M. Macrooxazoles A-D, new 2,5-disubstituted oxazole-4-carboxylic acid derivatives from the plant pathogenic fungus *Phoma macrostoma* // Molecules. 2020. Vol. 25 (23). P. 5497.

являлось проведение фитосанитарного мониторинга на культуре шпината.

Материал исследований был представлен 49 образцами шпината из коллекции ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова». Около половины (47,9%) – азиатские образцы из Китая, Японии, Индии, Афганистана, Кореи, Турции, Туркмении, Пакистана.

Изучение образцов *Spinacea oleracea L.* проводилось в 2009-2018 гг.

В результате обследования коллекционных образцов *Spinacea oleracea L.* выявлен основной состав патогенов, представленный сравнительно небольшим количеством видов.

По систематическому положению это преимущественно виды из царства *Fungi* (69,2%), менее представлено царство *Chromyista* и царство *Procarystota* (по 15,4%).

На всходах шпината отмечено выпадение всходов («чёрная ножка»), вызываемое комплексом фитопатогенов. В их числе возбудители: из отдела *Oomycota* – *Pythium debaryanum* Hess., из отдела *Ascomycota* – грибы рода *Fusarium*. Симптомы болезни при поражении *Pythium debaryanum* Hess. проявляются в потемнении корневой шейки и её загнивании. Развитие болезни способствует холодной и влажной погоде, когда корневая система медленно развивается в переувлажненной почве в условиях недостатка воздуха. Всходы шпината, пораженные фузариозом, обычно имеют более тусклую, тёмно-зелёную окраску, отстают в росте и впоследствии погибают. Помимо этого, грибы рода *Fusarium* вызывают у взрослых вегетирующих растений корневую гниль, сопровождающуюся пожелтением нижних листьев, с последующим увяданием. Корневая система поражается частично, либо полностью отмирает.

Зарегистрирована на шпинате одна из самых вредоносных болезней - ложная мучнистая роса (пероноспороз). Возбудитель – *Peronospora farinosa* f. sp. *spinaciae*. На листьях появляются округлые, разрастающиеся, хлоротичные пятна. В местах повреждений пластинка листа вздувается. С нижней стороны листа пятна вдавленные, покрываются серо-фиолетовым налетом спороношения гриба. Ночью или в облачные, прохладные и дождливые дни, когда растения покрыты водяной пленкой, споры прорастают и заражают растение. Примерно через неделю на вновь зараженных листьях уже появляются споры, дающие начало новому циклу развития гриба. В течение вегетационного периода образуется несколько генераций спор. Для гриба характерно образование ооспор.

На отдельных растениях шпината отмечались пятнистости, вызываемые грибами из класса *Dothideomycetes*: рамуляриозная – возбудитель *Ramularia spinaciae* Nypel.; церкоспорозная – возбудитель *Cercospora spinaciae* Oudem.; аскохитозная – возбудитель *Ascochyta spinaciae* Bond. - Mont; а также антракнозная – возбудитель *Colletotrichum dematium* f. *spinaciae* (Ellis et Halst.) Arx из класса *Sordariomycetes*.

При поражении рамуляриозом на листьях появляются светло-бурые окаймленные округлые пятна.

При заболевании церкоспорозом на листьях, черешках и стеблях поражённых растений образуются бледно-зелёные или жёлтые пятна, различной величины, часто сливающиеся, в центре с тёмными дерновинками спороношения.

ФИТОПАТОГЕННЫЙ КОМПЛЕКС ГРИБОВ РОДА FUSARIUM НА ОВОЩНЫХ КУЛЬТУРАХ В СРЕДНЕЙ СИБИРИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ БИОКОНТРОЛЯ

^{1,2}Маколова П.В., ^{1,2}Литовка Ю.А., ¹Леоненко А.А., ^{1,2}Патрушева М.М., ²Рыспекова Д.Н., ^{1,2}Павлов И.Н.

¹Институт леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск

²Сибирский государственный университет науки и технологий им. академика М.Ф. Решетнева, Красноярск

Поражение овощных культур фитопатогенными микроорганизмами было и остается основным лимитирующим фактором, ограничивающим стабильные показатели урожайности и продуктивности. Широкое распространение получили болезни, вызываемые комплексом патогенов, которые вызывают патологические изменения, как во время вегетации, так и в период хранения овощей. Одним из наиболее распространенных заболеваний сельскохозяйственных культур является фузариоз, возбудители которого относятся к группе грибов-космополитов с невысокой степенью специфичности и способностью поражать широкий спектр растений-хозяев. Грибы рода *Fusarium* являются продуцентами разнообразных микотоксинов, способных накапливаться при хранении сельскохозяйственной продукции и оказывать пролонгированное действие, что представляет дополнительную опасность для человека и животных.

Одним из аспектов повышения урожайности овощных культур является возможность предотвращения потерь их продуктивности за счет активного использования разнообразных средств защиты растений, в том числе превентивных. Современное сельское хозяйство направлено на снижение пестицидной нагрузки на агроценозы и предусматривает внедрение и активное использование щадящих форм борьбы с вредителями и заболеваниями. Переход к относительно безопасным для окружающей среды и эффективным методам защиты растений предполагает интегрированный подход, включающий агротехнические мероприятия и применение комплексных препаратов, в

Аскохитоз вызывает пятнистость листьев. Симптомы болезни – буроватые округлые или угловатые пятна с пикнидами в центре.

Антракноз поражает листья и черешки шпината, вызывая образование округлых сероватых пятен с тёмными краями. В центре пятен под эпидермисом развиваются спороноса в виде приподнятых бурых подушечек.

Отмечается существенное значение для культуры шпината семенной инфекции. Фитоэкспертиза семенного материала показала присутствие микрофлоры: *Botrytis cinerea* Pers. et Fr.; *Aspergillus niger* Tiegh.; *Alternaria alternata* Fr. Keissl.; *Fusarium oxysporum* f. *spinaciae* Snyd. et Hans.; *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp.; *Xanthomonas lactucae* (Brown.) Dowson.

Подведя итог сравнительного анализа частоты встречаемости фитопатогенов, на растениях шпината, установлено, что наиболее значимой по степени распространенности является ложная мучнистая роса, менее - корневая гниль.

Список литературы

1. Буренин В.И. Овощи-родник здоровья. - Л., Лениздат, 1990. – 225 с.
2. Алексеева К.Л., Иванова М.И. Болезни зеленных овощных культур. – М.: ФГБНУ «Росинформротех», 2015. – 188 с.

том числе биологических средств на основе микроорганизмов-антагонистов, гиперпаразитов и эндофитов. Применение последних лишь набирает обороты и имеет большой потенциал для сельского хозяйства.

Объектом данного исследования являлись штаммы фузариоидных грибов, изолированных их поражённых овощных культур (*Allium cepa*, *Beta vulgaris*, *Capsicum annuum*, *Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*, *Daucus carota*, *Solanum lycopersicum*, *Solanum melongena*, *Solanum tuberosum*), произрастающих на территории Емельяновского района Красноярского края в период с 2018-2021 гг. Штаммы хранятся в лаборатории лесных культур, микологии и фитопатологии Института леса имени В.Н. Сукачева СО РАН.

Грибы изолировали в чистую культуру из растительных образцов с признаками фузариоза (плоды, клубни, корнеплоды, луковицы, стебли) методом накопления во влажной камере с последующим переносом на питательные среды (2% мальт-экстракт агар с танином, картофельно-декстрозный агар). Видовую идентификацию осуществляли на основании результатов культурально-морфологических и молекулярно-генетических исследований [1-4]. Мицелий и репродуктивные структуры моноспорных культур изучали в микрокамерах методами светопольной (микроскоп Nikon Eslipse Ci, x1000) и растровой электронной микроскопии (микроскоп Hitachi SU3500, x1000-7000) при культивировании штаммов на среде SNA и голодном агаре. Видовую идентификацию подтверждали секвенированием участков генетических маркеров TEF и RPB2 на базе *Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Netherlands* [1].

Фитопатогенные свойства оценивали по модифицированной методике Челковского-Манки с использованием семян и проростков пшеницы сорта «Красноярская 12» [5]. Биотестирование метаболитов проводили на семенах пшеницы и овощных культур [4]. В качестве биоконтрольных агентов использовали аборигенные сибирские штаммы грибов *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg и таймырские штаммы актиномицетов *Promicromonospora alba*, *Lentzea flaviverrucosa*, *Streptomyces aureus*. Скрининг потенциальных антагонистов проводили методами встречных культур, перпендикулярных штрихов и агаровых блоков [6].

В результате проведенных исследований был установлен видовой состав фузариоидных грибов, вызывающих заболевания овощных культур в Средней Сибири. По совокупности морфологических, культуральных и молекулярно-генетических признаков фитопатогенный комплекс представлен восемью видами рода *Fusarium*: *Fusarium acuminatum* Ellis & Everh., *Fusarium annulatum* Bugnic., *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc., *Fusarium culmorum* (Wm.G. Sm.) Sacc., *Fusarium incarnatum* (Roberge ex Desm.) Sacc., *Fusarium oxysporum* Schldt., *Fusarium sambucinum* Fuckel, *Fusarium sporotrichioides* Sherb. (современное название *Fusarium chlamydosporum* Wollenw. & Reinking), *Fusarium tricinctum* (Corda) Sacc. Несколько штаммов, выделенные из корнеплодов свеклы и моркови, были идентифицированы только до рода *Fusarium* sp. (предположительно новый вид). Часть штаммов, выделенных из отмирающих стеблей огурца, идентифицированы как представители близкородственного рода *Neocosmospora* (вид не установлен).

Распределение видов по растению-хозяину выглядит следующим образом: из луковок *A.cera* изолированы преимущественно виды *F.acuminatum* и *F.annulatum*; в корнеплодах *B.vulgaris* доминируют *F.avenaceum* и *F.culmorum*; в корнеплодах *D.carota* – *F.culmorum* и *F.tricinctum*; в клубнях *S.tuberosum* – *F.incarnatum*, *F.sambucinum* и *F.sporotrichioides*; в плодах *S.annuum* преобладают *F.incarnatum* и *F.oxysporum*; в плодах *S.melongena* доминирует *F.sporotrichioides*; в плодах *S.lycopersicum* – *F.incarnatum*; в плодах *C.papo* – *F.avenaceum*; из пораженных стеблей *C. sativus* выделены, преимущественно, *F.oxysporum* и *Neocosmospora* sp.

Все исследуемые штаммы грибов проявляли фитопатогенные свойства в отношении растительных тест-объектов с различной интенсивностью. Угнетение развития проростков пшеницы варьировало от 42 до 100 % по сравнению с контролем. Максимальная фитопатогенность (100 %-я гибель всех тестовых растений) отмечена для штаммов *F.culmorum*, выделенных из корнеплодов свеклы и моркови. Под действием штаммов всех изученных видов формировались некротические зоны на корневых (чаще) и стеблевых частях тест-растений интенсивностью от 1 до 3 баллов. Наиболее фитопатогенные штаммы *F.culmorum* были дополнительно протестированы на проростках растений, их которых они были первоначально изолированы. Во всех

случаях отмечена высокая фитопатогенность (более 60 % ингибирования роста); максимум составил 91-93 % подавления развития стеблевой части тест-растений и 54-58 % – корневой части.

Исследование токсичности метаболитов (получены в глубинной культуре на токсигенной среде в течение 7 сут) в отношении тест-растений показало, что максимальная фитотоксичность характерна, по-прежнему, для штаммов *F.culmorum*, а также *F.sporotrichioides* (выделены из картофеля и баклажан). Энергия прорастания и лабораторная всхожесть семян была более чем на 50 % ниже, чем в контроле; максимальная степень ингибирования составила 92 %. Средний уровень фитотоксичности (ингибирование всхожести на 30-50 % относительно контроля) отмечен для видов *F.incarnatum* и *F.oxysporum*.

При исследовании антибиотической активности актиномицетов в отношении грибов было установлено, что все исследуемые фитопатогенные микромицеты в различной степени восприимчивы к действию антагонистов. Наибольшая чувствительность отмечена к штаммам 19р4 *L. flaviverrucosa* и 11-эд2-1 *Streptomyces aureus* – диаметр зоны отсутствия роста патогенов варьировал в пределах 19,7-28,9 мм. Абсолютная устойчивость обнаружена лишь у нескольких представителей *F. annulatum* и *F.oxysporum* со средним уровнем фитопатогенности. Исследование антибиотической активности *T. asperellum* также показало их перспективность для сдерживания развития грибов рода *Fusarium*. При парном сращивании биоконтрольных штаммов с патогенами степень антифунгальной активности грибов рода *Trichoderma* варьировала от 48 до 74 % и увеличивалась со временем.

Таким образом, подавляющее большинство исследуемых фитопатогенных штаммов рода *Fusarium* чувствительны к присутствию высоко активных штаммов актиномицетов и грибов рода *Trichoderma*, что свидетельствует об их высоком биоконтрольном потенциале для защиты овощных культур от фузариоза на территории Средней Сибири.

Список литературы

1. Crous P.W., Lombard L., Sandoval-Denis M. et. al. *Fusarium: more than a node or a foot-shaped basal cell* // *Studies in mycology*. 2021. Т. 95. P. 5-408.
2. Leslie J. F., Summerell B.A. *The Fusarium laboratory manual*. USA: Blackwell Publishing, 2006. 388 p.
3. Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O. *Fusarium species: an illustrated manual for identifications*. The Pennsylvania State University Press, 1983. 193 p.
4. Методы экспериментальной микологии / под ред. В.И. Билай. Киев: Наукова думка, 1982. 550 с.
5. Гагкаева Т.Ю. Фитопатогенный гриб *Fusarium cereals* на территории России // *Микология и фитопатология*. 2009. Том 43. Вып.4. С. 331-339.
6. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: Изд-во МГУ, 2014. – 525 с.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЫ ЗЛАКОВ НА СТАЦИОНАРНОМ УЧАСТКЕ ЗВЕНИГОРОДСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ МГУ

Малева Ю.В.

Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова

Возбудитель стеблевой ржавчины *Puccinia graminis* Pers. – объект многолетнего мониторинга на территории Звенигородской биологической станции МГУ, расположенной

в Одинцовском районе Московской области. Особенностью, определяющей важность данных такого мониторинга именно на этом стационаре, является его расположение

на краю лесного массива с вкраплениями дачных участков на высоком берегу реки Москвы с сохранившимся пойменным лугом и обширными полями, регулярно засеваемыми сельскохозяйственными злаками, расположенными на противоположном низком берегу. Таким образом, опытный участок, на котором регулярно высеваются тестерные растения злаков рядом с единичными кустами барбариса в сочетании с сорной злаковой огородной растительностью, находится под воздействием смешанного воздушного инфекционного фона, создаваемого спорным материалом ржавчины как с диких пойменных, так и с культурных злаков, а кусты барбариса на опытном и дачных участках обеспечивают рекомбинационный процесс.

Кусты барбариса на опытном и дачных участках относятся к сортам и формам с разной устойчивостью к ржавчине, а изменение в разные годы состава однолетних злаков в сельскохозяйственных посевах накладывается на достаточно стабильное многолетнее злаковое сообщество разнотравного пойменного луга в сочетании со стандартным набором однолетних тестерных злаков и разновозрастными многолетними сорняками, не только обеспечивающими на протяжении всего вегетационного периода восприимчивый к ржавчине материал, но и позволяющими сохраняться многолетнему дикариотическому мицелию фитопатогена.

Условия опытного участка позволяют варьировать как сортовой состав тестерных злаков, так и уровень и состав их подкормки удобрениями, что также дает возможность влиять на восприимчивость растений-хозяев к ржавчине.

Полевые учеты и испытания сочетаются со стандартным анализом заражения тестерных растений в контролируемых лабораторных условиях при искусственном освещении и с изоляцией отдельных растений-хозяев. Это позволяет определять преобладание специальных форм паразита в природных образцах спор.

Моноспоровые изоляты размножаются в контролируемых лабораторных условиях и используются для стандартного молекулярно-генетического анализа, позволяющего

уточнить и охарактеризовать специальную форму паразита, что важно для многолетнего мониторинга.

До настоящего времени в Московском регионе продолжает наблюдаться депрессия численности и пониженная инфекционная способность возбудителя стеблевой ржавчины злаков, развившаяся после тепловой аномалии 2010 года.

Исследование особенностей амплификационных спектров рибосомных IGS-спейсеров *P. graminis* разных специализированных форм гриба в динамике позволило обнаружить осенью 2010г. рекомбинационные перестройки в природных образцах гриба, опосредованные мобильными элементами. Эти новые варианты сохраняются все последующие годы. Нам удалось охарактеризовать не только новые варианты ржаной и пшеничной форм, но также и новый ячменный вариант. Промежуточный между пшеничной и ржаной формами характер амплификационных спектров IGS-1 спейсеров изолятов *P. graminis* с ячменя в совокупности с пониженной способностью этих изолятов к вегетативному росту и спорообразованию позволяет сделать предположение о гибридной природе этих изолятов.

Наблюдения особенностей развития *P. graminis* в природных и лабораторных условиях при постановке комплексных самостоятельных работ студентов с участием ученых разных специальностей позволяет расширить представление о биологии этого вида. По-видимому, особую роль в формировании и поддержании изменчивости возбудителя стеблевой ржавчины играют представители отряда Двукрылых галлицы-мицетофаги *Mycodiplosis ruscinae*, личинки которых активно питаются спорами гриба. Внекишечное пищеварение личинок обеспечивает лизис клеточных стенок гриба и, по-видимому, может приводить к образованию вегетативных гибридов *P. graminis*.

Участие студентов в мониторинговых исследованиях не только позволяет им глубже знакомиться с особенностями живой природы на практике, но и обеспечивает постоянную подготовку молодых специалистов, получающих навыки научной работы с этой сложной группой грибов.

ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ПАТОГЕННОМ ГРИБЕ *FUSARIUM BRACHYGIBBOSUM* PADWICK НА ПЛОДЕ ДЫНИ В УЗБЕКИСТАНЕ

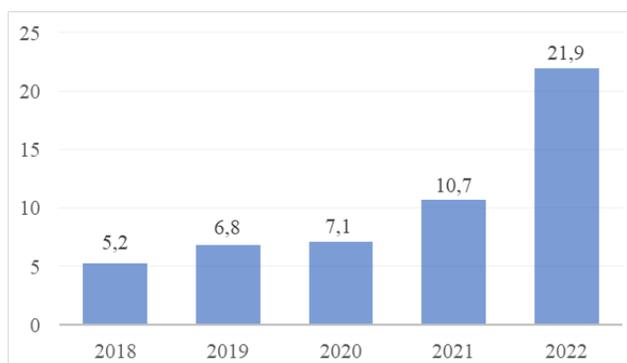
Маманазарова К.С.

Институт Ботаники Академии наук Республики Узбекистан. Ташкент, Республика Узбекистан

В Мире ежегодно выращивают в среднем 27 501 360 тонн дынь, в Узбекистане около 67 000 тонн. Дыня является одним из самых популярных фруктов, потребляемых во всем мире, в том числе в Узбекистане, и считается важным

культурным растением на территории республики. В Узбекистане выращивается разные виды и сорта (56 разных сортов дынь). В целом, сезон экспорта дыни из Узбекистана длится до 9 месяцев: начиная со второй половины мая

Рисунок. Объемы экспорта дыни из Узбекистана за май-июль 2018-2022 гг., тыс. тонн



по январь или февраль следующего года. Однако, период активных отгрузок на внешние рынки – с июня по ноябрь месяц, на суммарную долю этих шести месяцев приходится более 95% общего объема экспорта за весь сезон [1].

Узбекистан в основном специализирован на сельском хозяйстве. В ходе научных исследований, проведенных в Бухарской и Наманганской областях в сезоне 2021-2022 гг., было отмечено, что в сельскохозяйственных культурах широко распространены несколько видов патогенных грибов относящихся к 5 классам, 10 порядкам, 11 семействам, 16 родов, 19 видов и 3 формы секций *Ascomycota* и *Oomycota* хозяйственно важных культурных растений Бухарской области, а также секций *Ascomycota*, *Basidiomycota* и *Oomycota* патогенных грибов, выявленных в хозяйственно важных культурных растений Наманганской области выявлено 6 классов, 12 порядков, 14 семейств, 30 видов, относящихся к 20 семействам, 3 форме и 1 вариации.

Основные патогенные грибы найдены в районе Уйчи (Наманган. обл.) на следующих сельскохозяйственных растениях: слива домашняя (*Prunus domestica*) - монилиоз, тутовник (*Morus alba*) - монилиоз, красный острый перец (*Capsicum annuum*) - фитофтороз, инжир или фи́га (*Ficus carica*) - альтернариоз, тыква обыкновенная (*Cucurbita pepo*) и тыква гигантская (*Cucurbita maxima*) - фузариоз, миндаль сладкий (*Prunus dulcis* var. *dulcis*) - полистигмоз и монилиоз, айва продолговатая (*Cydonia oblonga*) - монилиоз, дыня (*Cucumis melo*) фузариоз, арбуз обыкновенный (*Citrullus lanatus*) - фузариоз, фасоль обыкновенная (*Phaseolus vulgaris*), томат (*Solanum lycopersicum*) фузариоз и фитофтороз.

В последние годы на бахчевых полях часто встречаются разные болезни которые ухудшают качества плодов и снижают урожайность. Самый распространенный из них грибковые болезни. На дыне в основном встречается фузариоз.

О распространении фузариозных болезней сельскохозяйственных культур и дикорастущих трав и мерах борьбы с ними в 1974-2001 гг. провел свою научные исследования профессор Шералиев А. На территории Узбекистана выявлено 17 видов и 10 разновидностей относящихся к родам *Fusarium*, которые наносят ущерб 57 видам культурных растений. Из них можно перечислить *F. javanicum*, *F. lateritium*, *F. solani*, *F. heterosporum*, *F. moniliforme*, *F. gibbosum* которые по ареалу и по хозяину широко распространены и считаются доминантами. На дынях он определил 6 видов и разновидностей фузариоза: *F. oxysporium*, *F. heterosporium*, *F. solani*, *F. sambicinum*, *F. gibbosum* var. *bullatum*, *F. moniliforme* var. *lactis* [2]. По данным Райлло патогенные грибы из рода фузариума заражают более 200 видов растение [3]

Болезнь фузариозного увядания у дыни начинает проявляться с середины вегетационного периода и в конце вызывает полное увядание растения. На листьях зараженных растений появляются желтые пятна, а края листьев

становятся красновато-коричневыми и начинают сохнуть, и выглядят как будто обожжены. По проводящие ткани стебля (флоэма и ксилема) наблюдается темно-коричневая окраска. Цветы не полноценно плодоносят и отстают от развития. Патогенные микромицеты способны значительно ухудшать качества плодов и вызывает снижение продуктивности.

В ходе полевых исследований, проведенных в мае-июне в Уйчинском районе, было установлено, что на бахчевых полях было заражено много стеблей дыни. На полях дынь были много мертвых и полувывсохших стеблей и плодов дыни. При анализе [4, 5] выявлена болезнь фузариоз.

По мере прогрессирования болезни пятнистость на плодах увеличивалась, диаметром от 10 до 20 мм и изменены с круглых до эллиптической формы. Несколько из болезненных месте плодов и стеблей вырезали, стерилизовали поверхность в 0,5% растворе гипохлорита натрия и помещали на картофельно-декстрозный агар (КДА). Колонии изначально были белыми, затем из оранжево-желтых превратились в среднебурые с обильным воздушным мицелием. Макроконидии редки, с тремя-четырьмя перегородками, микроконидии слегка изогнутые яйцевидные, веретеновидные с перегородками до двух. Сферические хламидоспоры 11,01 мм, были терминальными и вставочными, в основном одиночными.

Идентификация гриба [6] была подтверждена сравнением последовательности, сгенерированные из внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS) область рибосомной ДНК (праймеры ITS1 и ITS4). Эти последовательности имели 97,7% нуклеотидное сходство с последовательностями из генбанка *F. brachygibbosum* (MN 3638091). Ранее этот возбудитель не обнаружено на территории Узбекистана и как о причиной возбудитель отмирания *Cucumis melo*. Насколько нам известно, это первое сообщение о *F. brachygibbosum* на дыне.

Полевые исследования по изучению вида проведенных в Наманганской области в 2021-2022 гг. выявили статус и ареалы распространения *F. brachygibbosum*.

Список литературы

1. Государственный комитет республики Узбекистан по статистике. <https://east-fruit.com/novosti/v-mae-iyule-2022-goda-uzbekistan>
2. Шералиев А. Род *Fusarium* Lk.et Fr. в Узбекистане. Дис. ... док. биол. наук. – Ташкент, 2001. – С. 259.
3. Райлло И.А. Грибы рода Фузариум.М.:Изд.АН СССР. 1950. 456 с.
4. Билай В.И. Фузариоз. Киев: Наукова думка. 1977 439с.
5. Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. и др. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. 552 с.
6. Doyle, J.J.; Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, v.12, p.13-15, 1990

ВРЕДНОСНОСТЬ ЗАБОЛЕВАНИЯ «МУХОСЕД» (*SCHIZOTHYRIUM POMI* (MONT. & FR.) ARX) В НАСАЖДЕНИЯХ ЯБЛОНИ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Марченко Л.О., Подгорная М.Е.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства виноградарства и виноделия”, Краснодар

Возбудитель мухоседа - гриб *Schizothyrium pomi* (Mont. & Fr.) Arx, относится к отряду *Ascomycota*, классу *Dothideomycetes*, семейству *Schizothyriaceae*.

Гриб поражает широкий спектр культурных и диких растений, таких как дуб, ежевика, сассафрас, ива, гвоздика, банан, жимолость, киви, слива и т.д., однако большинство

исследований сосредоточенно на яблоне, как на наиболее распространенной и экономически важной плодовой культуре [1].

Заболевание на плодах проявляется в виде колоний, состоящих из блестящих, черных, округлых или яйцевидных, склероциевидных тел (тириотециев) на кутикуле яблоки. Гриб не вызывает физиологических повреждений плодов, но приводит к снижению их качества с высшего сорта до использования в переработки, что ведет к большим финансовым потерям [2].

Заболевание встречается во всем мире в регионах с влажным вегетационным периодом. Высокая вредоносность патогена отмечена в США, на Балканах Сербии, Германии, Турции и Бразилии [1].

На протяжении последних четырех лет в Краснодарском крае отмечено увеличение вредоносности мухоседа, ранее гриб отмечался лишь единично и ассоциировался со старыми, загущенными садами, заросшими сорной растительностью.

В 2021 году отмечено от 1 до 10% пораженных плодов яблони в Центральной зоне, Прикубанской подзоне садоводства Краснодарского края и от 20 до 50% пораженных плодов в Предгорной (Майкопский и Горячеключевской районы) и Черноморской (Туапсинский район) зонах садоводства. Выявлено, что наиболее восприимчивы к заболеванию сорта зимнего срока созревания – Голд Раш, Флорина, Айдаред, Голден Делишес, Чемпион, Лигол и др.

Изучение биологических особенностей патогена проводилось в 2022 году, в Черноморской зоне садоводства Краснодарского края, на базе СХ АО «Новомихайловское».

Зарубежные и отечественные исследователи в своих работах отмечали, что *S. pomi* зимует на разных культурах, большая часть растений-хозяев относится к роду *Rubus* (семейство Розовые). Поэтому в первую очередь были определены возможные растения – резерваторы мухоседа на границах сада и в лесополосах. Отбор проб дикорастущих растений осуществлялся еженедельно, со второй декады мая, в дальнейшем пробы исследовались на присутствие зимующей стадии патогена. Наибольший запас тириотециев был установлен на дерне (род *Cornus*), ежевике (род

Rubus), шиповнике (род *Rosa*), иве (род *Salix*). Единично гриб отмечался на алыче (род *Prunus*), клене (род *Acer*), ольхе (род *Alnus*), лещине (род *Corylus*), жимолости (род *Lonicera*). Высокий запас инфекции был зафиксирован на ломоносе (род *Clematis*), однако в ходе исследований под микроскопом не было отмечено созревания тириотециев, что может быть связано с усыханием побегов в зимнее время.

Начало разлета аскоспор было отмечено 5 мая. До сих пор не ясно, поражает аскоспоровая инфекция плоды яблони, или инициирует эпидемии только у резервуарных хозяев, на которых происходит накопление инокулюма, с дальнейшим разлетом конидий на культурные растения [1, 3].

Первые признаки поражения «мухоседом» на плодах яблони отмечены с конца второй декады июля, по мере созревания плодов процент увеличивается, что скорее всего связано с накоплением питательных веществ в соке плодов.

Таким образом, повышение вредоносности грибного заболевания «мухосед» в яблоневых агроценозах Краснодарского края требует уточнения биоэкологических особенностей развития *Schizothyrium pomi* (Mont. & Fr.) с целью усовершенствования системы защиты от патогена.

Список литературы

1. Williamson S.-M., Sutton T.B. Sooty Blotch and Flyspeck of Apple: Etiology, Biology, and Control// Plant Disease. – 2007. – Vol. 84. P - 714-724.
2. Batzer J.C., Gleason M.L., Harrington T.C., Tiffany L.H. Expansion of the sooty blotch and flyspeck complex on apples based on analysis of ribosomal DNA gene sequences and morphology // Mycologia. – 2005. – Vol. 97. – P. 1268–1286.
3. Cooley D. R., Susan M., Arthur F. Maturation of Thyriothecia of *Schizothyrium pomi* on the Reservoir Host *Rubus allegheniensis* // Plant Disease. – 2007. – Vol. 91. – P. 136 -141.

ОБОСНОВАНИЕ ЭЛЕМЕНТОВ ТЕХНОЛОГИИ КОНТРОЛЯ *NEOFABRAEA SPP.* В НАСАЖДЕНИЯХ ЯБЛОНИ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Марченко Н.А., Якуба Г.В.

ФГБНУ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар

Представители рода *Neofabraea* известны в качестве возбудителей антракноза многолетних культур, способных поражать растения как в течение вегетации, так и в период хранения плодов [1]. Род *Neofabraea* был впервые упомянут Jackson (1913); Verkley в 1999 г. [2] на основе комплексного применения молекулярных и морфологических методов исследования отделил *Neofabraea* в самостоятельный род. Как возбудители антракноза яблони на сегодняшний день известны 7 видов микромицетов этого рода: *N. malicorticis*, *N. corticola*, *N. perennans*, *N. vagabunda* (или *N. alba*), *N. krawtzevii*, *N. populi*, *N. eucalypti* [3], а также вид *Cryptosporiopsis kienholzii* [4]. Достоверно известно, что среди перечисленных видов три – *N. malicorticis*, *N. perennans* и *N. vagabunda* – способны вызывать антракнозную, или глеоспориозную, гниль в период хранения плодов, которая приводит к существенным потерям урожая и считается доминирующим заболеванием яблони на территории Европы, потери от которой достигают 30-40 % от общего ко-

личества пораженных плодов [3, 5, 6]. В Южной Америке в 2008-2009 гг. поражения этим заболеванием составили 76,2 и 58,7 % соответственно [7].

Микромицеты, вызывающие антракнозную гниль при хранении, проникают в плоды яблони еще в период вегетации. Источником первичного заражения являются механические повреждения коры или ветвей растений, чаще всего вызванные резкими колебаниями температур в весенний период, зараженный посадочный материал, механические повреждения плодов, сорная растительность, опавшие прошлогодние плоды и листья [8, 9 (9, 10)]. Источником вторичного заражения могут служить антракнозные язвы, содержащие споры *Neofabraea spp.*, на пораженных участках коры ветвей. Споры, смываемые дождем, попадают на здоровые участки коры, ветви и плоды. После проникновения в плоды патоген остается в латентной форме, визуальные признаки заболевания проявляются после сбора урожая, как правило, после третьего месяца хранения [9].

В результате исследований установлено, что в насаждениях яблони Краснодарского края, Россия, в связи с изменением основных метеопараметров климата отмечается возрастание вредоносности антракнозной гнили в период хранения: потери от заболевания возросли с 7,0 % в 2014-2015 гг. до 10,3 % 2020-2022 гг. [10]. Из 16 родов микромицетов-возбудителей, вызывающих в условиях региона болезни плодов яблони при хранении, род *Neofabraea* входит в первые пять наиболее часто встречаемых; гниль развивается, начиная с первого месяца хранения [11]. Возрастание вредоносности этих микромицетов мы связываем с изменением погодно-климатических условий и использованием посадочного материала, приобретенного в странах с высоким распространением *Neofabraea* spp.

В качестве превентивных мер распространения инфекционного начала *Neofabraea* spp. необходимо подбирать качественный, свободный от возбудителей заболевания посадочный материал. Наши исследования показали, что в условиях Краснодарского края контроль антракнозной гнили должен включать комплекс мероприятий, прежде всего, подбор сортов, устойчивых к погодным стрессорам. Как наиболее восприимчивые к антракнозу выделены сорта Айдаред, Голден Делишес Рейндерс, Ред Делишес, Ренет Симиренко, Старкримсон, Флорина, сильно повреждаемые в регионе аномально низкими температурами зимнего периода и возвратными заморозками. Для снижения инокулюма возбудителей на стволах и ветвях требуются ранневесенние обработки препаратами группы меди, а при высокой его плотности – дополнительно применение медьсодержащих фунгицидов в фазу «60-70 % опадения листьев». В условиях Краснодарского края в 2015-2016 и 2020-2022 гг. при применении препаратов для обработки плодов перед закладкой на хранение высокую эффективность против *Neofabraea* spp. была получена у фунгицидов Геокс, ВДГ, Клеймор, СК, Строби, ВДГ: 99-98-72 % соответственно [8, 12]. Фунгицид Медея, МЭ показал нестабильную защиту в контроле болезни: полное сдерживание заболевания в течение первых трех месяцев хранения и на уровне 30 % – в течение четвертого-шестого месяцев.

Таким образом, на Юге России наблюдается увеличение в насаждениях яблони экономической значимости *Neofabraea* spp., что связано с изменением основных метеопараметров: высокое количество осадков в весенний период за короткий промежуток времени, повышение среднесуточной температуры воздуха, возвратные заморозки в ранневесенний период, что в комплексе приводит к дополнительным стрессам у растений, способствуя заражению. В связи с этим, для региона важен подбор сортов яблони, адаптированных к местным погодно-климатическим условиям. На сегодняшний день в России имеется перечень препаратов, эффективных в контроле *Neofabraea* spp. Результаты испытаний показали, что в изменяющихся средовых условиях даже высокоэффективные фунгициды, зарегистрированные на яблоне против болезней хранения, не всегда способны контролировать антракнозную гниль. Учитывая растущую вредоносность заболевания и случаи сдвига чувствительности этих патогенов к ряду фунгицидов в Европейских странах [13], необходимо проводить поиск эффективных против *Neofabraea* spp. препаратов.

Список литературы

1. Grantina-Ievina, L. (2015). Fungi Causing Storage Rot of Apple Fruit in Integrated Pest Management System

- and their Sensitivity to Fungicides. Rural Sustainability Research, 34(329), 2–11. <https://doi.org/10.1515/plua-2015-0007>
2. Verkley, GJM. 1999. A monograph of *Peizicula* and its anamorphs. *Stud Mycol* 44:1-176.
3. Garipey T. D., Rahe J. E., Levesque C.A. et al. *Neofabraea* species associated with bull's-eye rot and cankers of apple and pear in the Pacific Northwest // *Plant Pathology*. – 2005. – V. – 27. – P. 118-124
4. De Jong S., Levesque A., Verkley G.J. et al. Phylogenetic relationships among *Neofabraea* species causing tree cankers and bull's-eye rot of apple based on DNA sequencing of ITS nuclear rDNA, mitochondrial rDNA, and the β -tubulingene // *Mycological Research*. – 2001. – V. 105 (6). – P. 658-669. DOI:10.1017/S0953756201003926
5. Wenneker M., Kohl J., Leeuwen P., Pham K., et al. Control of postharvest storage rots of apples and pears in the Netherlands // *Acta Horticulturae*. – 2016. – V. 1144. – P. 189–94.
6. Michalecka M., Bryk H., Poniatowska A., Puławska J. Identification of *Neofabraea* species causing bull's eye rot of apple in Poland and their direct detection in apple fruit using multiplex PCR // *Plant Pathology*. – 2016. – V. 65 (4). – P. 643-654. DOI 10.1111/ppa.12449
7. Soto-Alvear, S., Lolas, M., Rosales, I.M., Chávez, E.R., Latorre, B. A. Characterization of the bull's eye rot of apple in Chile // *Plant Disease*. – 2013. – V. 97 (4). – P. 485–490. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-12-0606-RE>
8. Якуба, Г.В. Снижение вредоносности доминирующих возбудителей болезней плодов яблони, развивающихся при хранении // *Научные труды Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства*. – 2015. № 22 (4). С. 81-88.
9. Kohl J., Wenneker M., Groenenboom-de Haas B. H., Anbergen R. et al. Dynamics of post-harvest pathogens *Neofabraea* spp. and *Cadophora* spp. in plant residues in Dutch apple and pear orchards // *Plant Pathology*. – 2018. – V. 67 (6). – P. 1264–1277. <https://doi.org/10.1111/ppa.12854>
10. Марченко Н.А. Якуба Г.В. Изменение структуры микопатоккомплекса возбудителей болезней хранения плодов яблони // *Защита растений от вредных организмов. Материалы X международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Кубанского государственного аграрного университета*. – Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина. 21–25 июня 2021 г. – С. 228-231.
11. Марченко, Н. А., Якуба Г.В. Оценка эффективности фунгицидов против возбудителей гнилей плодов яблони в период хранения // *Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия*. – 2020. – Т. 29. – С. 170-177. – DOI 10.30679/2587-9847-2020-29-170-177
12. Якуба Г.В. Эмбрелия и Геокс – качество хранения плодов яблони, начинающееся с цветения // Г.В. Якуба // *Защита и карантин растений*. – 2017. – № 8. – 37-39.
13. R.W.S. Weber, G. Palm Resistance of storage rot fungi *Neofabraea perennans*, *N. alba*, *Glomerella acutata* and *Neonectria galligena* against thiophanate-methyl in Northern German apple production // *Journal of Plant Diseases and Protection - New Series*. – 2010. – V. 117 (4), P. 185-191 DOI: 10.1007/BF03356359

ГРИБНЫЕ БОЛЕЗНИ ДЫНИ В НАМАНГАНСКОЙ ОБЛАСТИ, УЗБЕКИСТАН

Мустафаев И.М., Сафаров Ф.П.

Институт Ботаники, Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

В Узбекистане ежегодно выращиваются в среднем 850 000 тонн дыни [1]. В результате воздействия вредителей и болезней этот показатель с каждым годом снижается. Среди болезней дыни особое значение имеют патогенные грибы. В последние годы в Узбекистане усиливается негативное влияние патогенных грибов на сельскохозяйственные культуры. Поэтому с 2021 года сотрудниками Лаборатории микологии и альгологии Института ботаники АН РУз на основе государственной научно-технической программы, ведутся работы по теме «Патогенные грибы хозяйственно значимых, экспортируемых плодовоовощных и бахчевых культур: разнообразие, мониторинг и создание электронной базы данных (на примере Бухарской и Наманганской областей)». Основной целью наших научных исследований является идентификация видового состава патогенных грибов вызывающих болезни хозяйственно значимых растений, в том числе экспортируемых фруктов, овощей и бахчевых культур, мониторинг источников, распространения и сезонного развития грибных болезни.

Материалом для написания данного тезиса послужили гербарные образцы, собранные в результате микологических исследований, проведенных на территории Наманганской области в течение 2021-2022 гг. Наманганская область была образована 6 марта 1941 года. Площадь территории — 7900 км². Наманганская область расположена в северной части Ферганской долины, на правом берегу реки Сырдарья. На западе граничит с Ташкентской областью (соединена перевалом Камчик), на юго-западе — с Согдийской областью Республики Таджикистан, на востоке — с Андижанской областью, на юге — с Ферганской областью, на севере — с Алабукинским районом Джалал-Абадской области Киргизии.

Зараженные растения сфотографированы цифровой камерой Canon EOS 750D. Изучение морфологических признаков грибов проведено в лабораторных условиях с помощью бинокулярного микроскопа Moticam 5H-300M. Для идентификации видовой принадлежности грибов использовались соответствующие определители, монографии и научные статьи [2,3,4,5,6]. Названия грибов дано по www.indexfungorum.org [7].

В результате проведенных нами микологических исследований на дынных полях в Наманганской области выявлены 4 вида патогенных грибов. Видовой состав и краткие описания этих видов приведены ниже.

1. *Alternaria cucumerina* (Ellis & Everh.) J.A. Elliott, *Am. J. Bot.* 4: 472 (1917) [7]

Alternaria cucumerina впервые описан в 1917 г. J.A. Эллиоттом который вызывает алтернариоз на растениях се-

мейства тыквенных [3]. В результате научных поездок на поля Наманганской области установлено, что эта болезнь поражает до 50% (местами до 90%) урожая дыни с одного поля. В результате воздействия данного патогена на листья растения появляются мелкие округлые светло-коричневые пятна с более светлой серединой, слегка вогнутые, затем темно-коричневые и концентрические пятна. Они разрастаются и покрывают большую часть листьев, которые желтеют и засыхают.

2. *Fusarium oxysporum* Schldl., *Fl. berol. (Berlin)* 2: 139 (1824) [7]

Fusarium oxysporum вызывает фузариозное увядание который часто встречается на сельскохозяйственных культурах во время развития и созревания плодов. Дыня повреждается фузариозным увяданием во все фазы роста и развития. В Наманганской области нами отмечено что наибольшее поражение дынь происходит в стадии плодоношения. На корневой шейке кустов дыни развиваются бесцветные, затем буроватые пятна, после чего они загнивают и полное растение засыхает. В некоторых полях замечены полное засыхание кустов дыни определенных участков.

1. *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & M.A. Curtis) Rostovzev, *Annals Inst. Agron. Moscow* 92: 425 (1903) [7]

Peronosplasmopara cubensis (= *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostov) который вызывает ложную мучнистую росу поражают растения семейства тыквенных. На пораженных органах образуются белые или серые пятна, сильно поражённые листья буреют и засыхают.

2. *Stagonosporopsis* sp. В ходе исследований, проведенных в Уйчинском районе Наманганской области, было установлено, что на дынях сорта «хандаляк» наблюдались признаками болезни, которые ранее не встречался на территории Узбекистана. Первичные морфологические исследования возбудителя и симптомы болезни показал, что это болезнь вольности совпадает с признаками смолистого ожога стеблей (*Gummy stem blight*) тыквенных который поражает *Stagonosporopsis cucurbitacearum* (син. *Didymella bryoniae*) [6]. По нашим наблюдениям смолистым стеблевым ожогом в основном поражается главный стебель, после чего эта болезнь распространяется на ветки. Симптомы заболевания включают некроз стебля, серовато-коричневая слизь (экссудация), угловатые коричневые пятна на листьях и гнилых плодах. Через некоторое время серовато-коричневая слизь засыхает и становится темно-коричневой (рис.1).

Рис.1. Поражённый кусты дыни смолистым стеблевым ожогом



Список литературы

1. <https://eurasianet.org/uzbekistansmelons>
2. Сагдуллаева М.Ш., Киргизбаева Х.М., Рамазанова С.С., Гулямова М.Г., Файзиева Ф.Х. Флора грибов Узбекистана. Т. VI. Гифальные грибы (Dematiaceae). – Ташкент: Фан, 1990. – 132 с.
3. Evans K.J., Nyquist, W.E. and Latin, R. X. 1992. A model based on temperature and leaf wetness duration for establishment of *Alternaria* leaf blight of muskmelon. *Phytopathology* 82: 890-895.
4. Гапоненко И. Н. Семейство Peronosporaceae Средней Азии и Южного Казахстана. – Ташкент: Фан, 1972. – 340 с.
5. Sudisha J, Kumar TV, Niranjana SR, Shetty HS (2004) First report of gummy stem blight caused by *Didymella bryoniae* on muskmelon (*Cucumis melo*) in India. *Plant Pathol* 53:533
6. In Young Choi, Jang Nam Choi, Dong Chil Choi, Praveen Kumar Sharma & Wang Hyu Lee (2010) Identification and Characterization of the Causal Organism of Gummy Stem Blight in the Muskmelon (*Cucumis melo* L.), *Mycobiology*, 38:3, 166-170, DOI: 10.4489/MYCO.2010.38.3.166
7. www.indexfungorum.org Дата обращения 26,08,2022 г.

ГРИБ *NIGROSPORA GORLENKOANA*, РАСПРОСТРАНЕННЫЙ НА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУРАХ В РОССИИ

Список литературы

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР), Санкт-Петербург, Пушкин

Согласно нашим данным многолетнего анализа заражённости грибами образцов зерна из различных регионов РФ, среди разнообразных представителей микобиоты чаще стали встречаться грибы, по морфологическим признакам относящиеся к роду *Nigrospora Zimm.*

Интерес к этой группе грибов в последние годы во всём мире заметно вырос, поскольку более 60% видовых эпитетов рода *Nigrospora* по данным *Index Fungorum* описаны в период 2017-2022 гг [1]. Чаще всего, эти грибы рассматривают как вредоносные организмы, оказывающие негативное влияние на растения [2-4], однако также они способны продуцировать вторичные метаболиты, обладающими антивирусными, антибиотическими, фунгицидными и инсектицидными свойствами [5,6]. Виды рода *Nigrospora* выделены не только из растений, но также из лишайников [7], насекомых [8,9], морских объектов [10,11].

На территории РФ целенаправленное изучение видового разнообразия и распространения грибов *Nigrospora* не проводилось. Ранее выявлен только *N. oryzae* (Berk. & Broome) Petch (устар. *N. sphaerica* (Sacc.) E. W. Mason) как патоген кукурузы, риса и других растений [12].

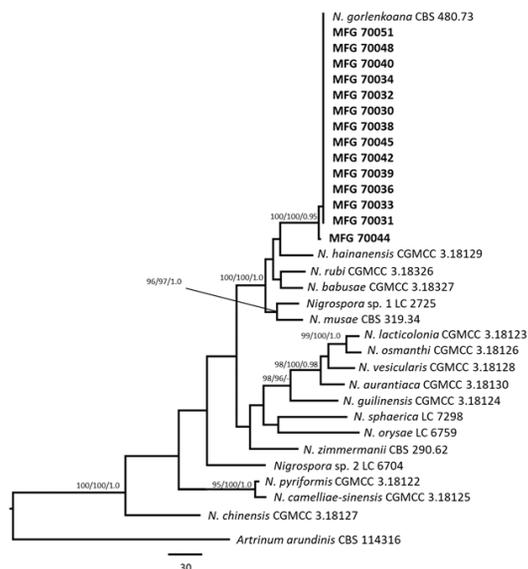
Из коллекции лаборатории микологии и фитопатологии ВИЗР были выбраны штаммы, по сумме морфолого-культуральных признаков отнесённые к роду *Nigrospora*. Штам-

мы выделены из зерна пшеницы (10 шт.), а также кукурузы, овса, ячменя и семян рапса (по одному штамму). Выбор этих штаммов обусловлен широтой географического происхождения образцов, из которых они были изолированы: Краснодарский край, Белгородская, Воронежская, Ленинградская, Московская, Новосибирская, Омская, Псковская, Ростовская, Тамбовская и Челябинская области, Башкирия и Чечня.

Филогенетический анализ был основан на сравнении последовательностей фрагментов внутреннего транскрибируемого спейсера рДНК (ITS), генов фактора элонгации трансляции (TEF) и β -тубулина (*tub*) [2] анализируемых штаммов (номера ОК563236-ОК563250, ОК626356-ОК626388 в GenBank, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), а также 18 референсных штаммов *Nigrospora spp.* из этой базы данных.

В результате установлена принадлежность всех анализируемых штаммов к одному виду *N. gorlenkoana Novobr.* (рис), что с учётом их географического и растительного разнообразия, позволяет утверждать о повсеместном распространении этого вида *Nigrospora* на зерновых культурах в РФ. Ранее вид *N. gorlenkoana* был выявлен на листьях и ягодах винограда в Казахстане [13], на листьях бодяка в Китае [14], а также на корнях дуба в Польше [15].

Рис. Дендрограмма филогенетического сходства, построенная на основе комбинированных нуклеотидных последовательностей ITS, TEF и tub фрагментов генома методом максимальной экономии. В узлах приведены значения бутстреп-поддержки (> 70%) при анализе методами максимального правдоподобия и максимальной экономии, а также значения Байесовская апостериорной вероятности (> 0.95). Полу жирным шрифтом отмечены анализируемые штаммы из коллекции лаборатории микологии и фитопатологии ВИЗР.



Фенотипические особенности роста штаммов *N. gorlenkoana* анализировали при их культивировании на картофельно-сахарозной (КСА) и Чапека (ЧА) агаризованных средах в темноте при 25°C. На КСА культуры *N. gorlenkoana* быстрорастущие, распространенные, плоские, с разреженным воздушным мицелием серого цвета, на третьи сутки диаметр колоний на КСА варьировал от 60 до 80 мм (в среднем 74.2±1.8 мм). С возрастом воздушный мицелий становится плотнее, шерстисто-кочковатым, серовато-черным, с клочками стерильных гиф белого цвета. Реверс колонии оттенков серого цвета, неровный, с темными пятнами и просвечивающим рисунком субстратных гиф гриба. На ЧА культуры гриба *N. gorlenkoana* слабо растущие, плоские, с разреженным воздушным мицелием, светлые, почти не образующие споронии, диаметр колоний грибов варьировал от 10 до 53 мм и в среднем составил 31.2±3.7 мм.

Спороношение культур *N. gorlenkoana* на КСА формируется на 2–3 сутки. Конидии на КСА обильные, одноклеточные, одиночные, по одной на каждой конидиогенной клетке, шаровидные или широкоэллиптические, вначале имеют вид бесцветных или бледно-коричневых вздутий, которые по мере созревания становятся плотно-черными, блестящими, гладкими, размеры в диапазоне 13.0–14.0 × 10.6–16.5 мкм (в среднем 12.0 × 13.6 мкм).

Информация о вредоносности гриба *N. gorlenkoana* в отношении злаков отсутствует. В наших исследованиях, изоляты данного гриба были выделены из поверхностно простерилизованных и внешне здоровых семян растений. Патогенность штаммов гриба *N. gorlenkoana* оценивали по их влиянию на проростки семян пшеницы (сорт Васса) и ячменя (сорт Деспина), разложенных на поверхность культур гриба и инкубируемых в течение 7 суток при +25°C, в темноте [16]. Выявлено достоверное снижение длины проростков пшеницы и ячменя, которое в среднем составило 48.0±6.4 % и 38.7±4.6 % по сравнению с контролем, соот-

ветственно. Однако фитотоксический эффект не сопровождался видимыми некрозами проростков.

Ранее установлена патогенность *N. oryzae* в отношении проростков пшеницы, однако агрессивность штаммов была невысокой [17,18]. Гриб *N. sphaerica* вызывал поражение проростков и развитие пятнистости листьев злаковых растений [19,20]. В то же время, грибы рода *Nigrospora* могут обитать в растениях эндофитно, и их метаболиты способны оказывать различное влияние, как на хозяина, так и на сопутствующую биоту [2,21].

В связи с повсеместной встречаемостью грибов *Nigrospora* в микобиоте различных растений и их негативным влиянием на семенные качества зерна необходимо продолжить выявление и уточнение видового разнообразия грибов этого рода, а также описание их свойств.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 19-76-30005).

Список литературы

1. Index Fungorum. <http://www.indexfungorum.org>
2. Wang M., Liu F., Crous P.W., Cai L. Phylogenetic reassessment of *Nigrospora*: ubiquitous endophytes, plant and human pathogens. *Persoonia* 2017. 39:118–142.
3. Rashmi M., Kushveer J., Sarma V. A worldwide list of endophytic fungi with notes on ecology and diversity. *Mycosphere* 2019. 10:798–1079.
4. Матвиенко Е.В., Кинчарова М.Н. Фитосанитарная экспертиза семян сорго зернового. *Современная микология в России* 2020. 8(1):337–338.
5. Meepagala K.M., Becnel J.J., Estep A.S. Phomalactone as the active constituent against mosquitoes from *Nigrospora sphaerica*. *Agricultural Sci.* 2015. 10:1195–1201.
6. Waill A.E., Ghoson M.D. Chemical and bioactive metabolites of *Humicola* and *Nigrospora* secondary metabolites. *J. Pharm. Pharmac. Res.* 2022. 5(1):058.

7. Oh S.-Y., Yang J.H., Woo J.-J., Oh S.-O., Hur J.-S. Diversity and distribution patterns of endolichenic fungi in Jeju Island, South Korea. *Sustainability* 2020. 12(9):3769.
8. Wu Z., Xie Z., Wu M., Li X., Li W., Ding W. et al. New antimicrobial cyclopentenones from *Nigrospora sphaerica* ZMT05, a fungus derived from *Oxya chinensis* Thunber. *J. Agric. Food Chem.* 2018. 66,21:5368–5372.
9. Aghyl H., Mehrabi-Koushki M., Esfandiari M. New records of the fungal species associated with insects in Iran. *J. Appl. Res. Plant Prot.* 2022. 11:61–79.
10. Zhang Q.H., Tian L., Zhou L.D., Zhang Y., Li Z.F., Hua H.M. et al. Two new compounds from the marine *Nigrospora sphaerica*. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 2009. 11(11):962–966.
11. Sun X.-P., Xu Y., Cao F., Xu R.-F., Zhang X.-L., Wang C.-Y. Isoechinulin-type alkaloids from a soft coral-derived fungus *Nigrospora oryzae*. *Chem. Natural Compoun.* 2014. 50(6):1153–1155.
12. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран. Болезни сельскохозяйственных культур. *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch. – Нигроспориоз кукурузы. http://www.agroatlas.ru/ru/content/diseases/Zae/Zae_Nigrospora_oryzae
13. Новобранова Т.И. Новые виды несовершенных грибов из Алма-Атинской области. *Новости систематики низших растений* 1972. 9:180–187.
14. Hao Y., Aluthmhandiram J.V.S., Chethana K.W.Th., Manawasinghe I.S., Li X., Liu M., et al. *Nigrospora* species associated with various hosts from Shandong Peninsula, China. *Mycobiology* 2020. 48:169–183.
15. Jankowiak R., Sępniewska H., Bilański P., Taerum S. Fungi as potential factors limiting natural regeneration of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in mixed-species forest stands in Poland. *Plant Pathol.* 2022. 71:805–817.
16. Орина А.С., Гаврилова О.П., Гагкаева Т.Ю. Патогенность грибов рода *Nigrospora*, выделенных из зерна, и влияние фунгицидов на их рост. *Защита и карантин растений* 2022. (6):7-10.
17. Bozoğlu T., Dervis S., Imren M., Amer M., Özdemir F., Paulitz T.C. et al. Fungal pathogens associated with crown and root rot of wheat in Central, Eastern, and Southeastern Kazakhstan. *J. Fungi.* 2022. 8:417.
18. Eken C., Spanbayev A., Tulegenova Z., Yechshzhanov T. First report of *Nigrospora oryzae* on wheat in Kazakhstan. *Plant Dis.* 2016. 100:861.
19. Cui Y., Wu B., Peng A., Li Z., Ling J., Xiaobing S. First report of *Nigrospora* leaf blight on sugarcane caused by *Nigrospora sphaerica* in China. *Plant Dis.* 2017. 102:824.
20. Han Y.Z., Fan Z.W., Wu C.F., Li M.Y., Zhou D.D. First report of *Nigrospora* leaf blight on elephant grass caused by *Nigrospora sphaerica* in China. *Plant Dis.* 2019. 103:2681.
21. Chagas F.O., Dias L.G., Pupo M.T. A mixed culture of endophytic fungi increases production of antifungal polyketides. *J. Chem. Ecol.* 2013, 39(10):1335–1342.

ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ СПОСОБОВ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ НА ПАТОГЕННОСТЬ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СЕПТОРИОЗА *P. NODORUM* И *Z. TRITICIS*

Пахолкова Е.В., Сальникова Н.Н.

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии (ВНИИФ), Большие Вяземы, Московская обл.

Сохранение штаммов без утраты их основных свойств является главной задачей исследователей, имеющих дело с коллекциями микроорганизмов. В Государственной коллекции фитопатогенных микроорганизмов (ГКФМ) ВНИИФ хранится 359 штаммов возбудителей септориоза, распространенных на посевах пшеницы и ячменя на территории России. Из них: 107 штаммов *Parastagonospora nodorum* (Berk.) *Quaedvlieg, Verkley & Crous*, 241 штамм *Zymoseptoria tritici* (Desm.) *Quaedvlieg & Crous* и 2 штамма *Parastagonospora avenae* *Quaedvlieg, Verkley & Crous f. sp. triticea* T. Johnson. Географическое происхождение штаммов охватывает 10 регионов Российской Федерации (Центральный, Центральнo-Черноземный, Северо-Кавказский, Северо-Западный, Северный, Волго-Вятский, Поволжский, Западно-Сибирский, Восточно-Сибирский, Дальневосточный), а также страны ближнего зарубежья (Украина, Беларусь, Молдова, Казахстан, республики Прибалтики). Сотрудниками института были разработаны методы выделения гриба в чистую культуру, определения культурально-морфологических (КМ) признаков изолятов на питательной среде, оценки патогенности и вирулентности изолятов на растениях-хозяевах, а также способы поддержания и длительного хранения культур (1, 2, 3, 4, 5).

Коллекционные штаммы возбудителей септориоза, хранящиеся в ГКФМ, являются востребованными как во ВНИИФ, так и в других научно-исследовательских учреж-

дениях России и наиболее часто используются для проведения иммунологических испытаний сортов на устойчивость к этому заболеванию. Для проведения таких исследований, как правило, требуется жесткий искусственный инфекционный фон, для создания которого требуются высокопатогенные штаммы. Однако, как и многие факультативные грибы, возбудители септориоза обладают значительной изменчивостью и при частых пересевах, либо при длительном хранении могут утратить не только свои культурально-морфологические признаки, но и патогенность. С целью сохранения или восстановления патогенности штаммов рекомендуется периодически проводить их пассажи через растение-хозяина (3), что по мере увеличения объема коллекции становится все более трудной задачей. Поэтому необходимо подбирать такие способы хранения, которые позволяли бы дольше сохранять культуры без значительных изменений их патогенных свойств.

В ГКФМ длительное хранение культур возбудителей септориоза осуществляется тремя основными способами: хранение в пробирках со стерильной почвой в холодильнике при +4-80С, хранение в лиофилизированном состоянии на полосках фильтровальной бумаги при -200С и -800С, хранение при +4-80С в виде гербарного материала растений-хозяев, зараженных определенными штаммами гриба. Первый способ применяется для штаммов *P. nodorum*, два других – для обоих видов гриба.

Целью исследований было оценить изменение патогенности штаммов в процессе длительного хранения. Для исследований были выбраны высокопатогенные штаммы двух наиболее распространенных возбудителей септориоза - *P. nodorum* и *Z. tritici*, хранящиеся в течение разных сроков вышеуказанными способами.

Методика исследований

Патогенность штаммов, восстановленных после хранения, проверяли на сортах-дифференциаторах. Растения в фазе 2-х листьев инокулировали путем опрыскивания споровой суспензией гриба. Концентрация - 1×10^6 спор/мл для *P. nodorum* и 1×10^7 спор/мл для *Z. tritici*. Объем - из расчета 5 мл на 1 вазон. Зараженные растения на 2 суток помещали во влажную камеру, а затем - в ростовой бокс теплицы, где поддерживалась температура 18°C (ночью) - 22°C (днем) и освещенность 15 тыс. люкс не менее 16 часов в сутки.

Степень поражения растений изолятами *P. nodorum* оценивали визуально через 14 суток после инокуляции. Уровень патогенности определяли по средней степени поражения 2-х листьев всех сортов: I - слабопатогенные (степень поражения менее 20%), II - среднепатогенные (21-50%), III - высокопатогенные (более 50%). Патогенность изолятов *Z. tritici* определяли по двум параметрам: степени поражения растений и споруляции гриба *in vivo*. Степень поражения растений оценивали через 20 суток после инокуляции по тем же грациям, что и для *P. nodorum*, а споруляцию - по количеству спор/лист с помощью камеры Горяева. По интенсивности споруляции *in vivo* изоляты *Z. tritici* дифференцировали на слабоспорулирующие (до 100 тыс. спор/лист); среднеспорулирующие (от 100 до 200 тыс. спор/лист); высокоспорулирующие (более 200 тыс. спор/лист) (5).

Результаты исследований

При хранении в стерильной почве культур *P. nodorum* по истечении 6-10 лет небольшое снижение патогенности наблюдалось у 33,3% штаммов, у остальных она осталась на прежнем уровне. Если возраст почвенных культур составлял более 10 лет, то в 28,6% случаев отмечалось сильное снижение патогенных свойств, однако 57,1% штаммов по-прежнему были способны в сильной степени поражать растения. Хранение после лиофилизации при температуре -200°C в течение 10 лет, также не оказало значительного воздействия на уровень патогенности примерно у половины штаммов *P. nodorum*. Значительное его снижение отмечено у 20% культур после 6 лет хранения. При глубоком замораживании (-800°C) незначительная потеря патогенности наблюдалась у 50% культур. При хранении в гербарных образцах в течение 1-6 лет только у 1 штамма из 10 патогенность существенно упала после 3-х лет хранения, у остальных штаммов, хранившихся в течение 2-6 лет, она снизилась до средней степени, либо не изменилась (таблица).

Штаммы *Z. tritici* были менее устойчивы к длительному хранению, что проявилось в снижении, как степени поражения растений, так и в спорообразовании гриба *in vivo*. Большинство штаммов отрицательно отреагировали на хранение в лиофилизированном состоянии. При сроке хранения 1-5 лет при -200°C только 15,4% штаммов сохранили патогенность, тогда как у 76,9% культур она снизилась до слабой. После 6-10 лет это произошло у всех проверенных штаммов. При хранении в гербарных образцах сильное снижение патогенности наблюдалось после 6 лет хранения. У двух штаммов, возраст которых составлял 1 и 4 года, патогенность, соответственно, снизилась незначительно, либо не изменилась (таблица).

Таблица - Изменение патогенности штаммов *P. nodorum* и *Z. tritici* в процессе хранения различными способами

Способ и срок хранения	Кол-во проверенных штаммов	Нет снижения, % III → III	Не сильно, % III → II	Сильно, % III → I
<i>P. nodorum</i>				
Стерильная почва (6-10 лет)	18	66,7	33,3	0
-«- (> 10 лет)	7	57,1	14,3	28,6
Лиофилизация -20°C (1-5 лет)	13	53,8	38,5	7,7
-«- 6-10 лет	10	50,0	30,0	20,0
Лиофилизация -80°C (1-5 лет)	6	50,0	50,0	0
Гербарий (2-6 лет)	10	40,0	50,0	10,0
<i>Z. tritici</i>				
Лиофилизация -20°C (1-5 лет)	13	15,4	7,7	76,9
-«- (6-10 лет)	13	0	0	100
Лиофилизация -80°C (5 лет)	2	0	50,0	50,0
Гербарий 1-6 лет	3	33,3	33,3	33,3

Выводы и заключения

Для большинства штаммов *P. nodorum* процесс хранения всеми вышеуказанными способами не оказывает значительного влияния на их патогенность. Однако отмечена корреляция между снижением патогенности и увеличением срока хранения культур, как в стерильной почве, так и

в лиофилизированном состоянии. Патогенность штаммов *Z. tritici* более подвержена негативным изменениям в процессе длительного хранения любым из двух использованных способов. Это особенно следует учитывать, применяя коллекционные штаммы этого вида гриба в иммунологических исследованиях для создания искусственного ин-

фекционного фона. Для этих целей рекомендуется после длительного хранения провести пассаж штамма через растение-хозяина, чтобы восстановить его патогенность.

Список литературы

1. Пыжикова Г. В., Санина А. А., Курахтанова Т. И., Давыдова Е. П., Породенко В. В., Санин С. С., Васецкая М. Н., Чигирев С. М., Дубынина Т. С., Москвитин Э. В., Катукова Н. П. Септориозы зерновых культур. Метод. указ. М. 1988. 58 стр.
2. Пыжикова Г. В., Санина А. А., Супрун Л. М., Курахтанова Т. И., Гогавя Т. И., Мепаришвили С. У., Анциферова Л. В., Кузнецов Н. С., Игнатов А. Н., Кузьмичев А. А. Методы оценки устойчивости селекционного материала и сортов пшеницы к септориозу. Метод. указ. М. 1989. 43 стр.
3. Санина А.А., Анциферова Л.В. Способы выделения и хранения возбудителей септориоза пшеницы. Микология и фитопатология. 1989, т. 23, вып. 2, стр. 172-175.
4. Санина А.А. Физиологическая специализация *S. tritici* Rob. et Desm. Микология и фитопатология, 1991, т. 25, вып. 4, стр. 338-341.
5. Санина А.А., Анциферова Л.В. Определение патогенных свойств изолятов *Septoria nodorum* (Berk.) Berk. и *S. tritici* Rob. et Desm. на пшенице. Микология и фитопатология, 1991, т. 25, вып. 2, стр. 155-159.

ОПЕРАТИВНЫЙ МОНИТОРИНГ ФУЗАРИОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИЙ ДИСТАНЦИОННОГО ЗОНДИРОВАНИЯ

^{1,2}Павлов И.Н., ^{1,2}Литовка Ю.А., ^{1,2}Маколова П.В., ³Емельянов Д.В., ³Ботвич И.Ю., ³Шевырнов А.П., ^{1,2}Патрушева М.М., ¹Овчинников А.Г., ^{1,2,4}Кокорин А.Н.

¹Институт леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск
²Сибирский государственный университет науки и технологий им. академика М.Ф. Решетнева, Красноярск

³Институт биофизики СО РАН, Красноярск

⁴Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН)

В настоящее время совокупность климатических, агротехнических, политических и экономических факторов привела к существенному дефициту зерновых на продовольственном рынке. Мировые цены на пшеницу в марте 2022 года достигли 14-летних максимумов. Пшеница становится стратегическим и ценным коммерческим продуктом, а обеспечение продовольственной безопасности требует особого внимания и новых подходов.

Существенное изменение климата и экстенсивные системы ведения сельского хозяйства привели к росту заболеваемости зерновых культур, в том числе за счет появления резистентных форм фитопатогенов, включая фузариоидные грибы. Представители рода *Fusarium* широко распространены во всех зерносеющих регионах, включая территории, характеризующихся относительно неблагоприятными почвенно-климатическими условиями для жизнедеятельности фитопатогенных грибов (Якутия, Архангельская область, север Красноярского края). Фитопатогенные свойства отдельных штаммов отличаются в силу высоко уровня природного полиморфизма, а также под действием комплекса абиотических и биотических факторов, что приводит к формированию экотипа со специфическими особенностями развития. Дополнительную опасность грибы рода *Fusarium* представляют, как продуценты микотоксинов пролонгированного действия, способных накапливаться в зерне и продуктах его переработки и представлять опасность для животных и человека. Таким образом, сохранение продуктивности и высокого качества урожая (без микотоксинов и контаминации конидиями) с максимально ранним обнаружением заболеваний растений для обеспечения быстрой локализации очага инфекции, эффективного сдерживания ее дальнейшего распространения, применения современных средств защиты с учетом стадии развития растения, степени его поражения

и органотропной специализации патогена в отношении растения-хозяина являются приоритетными задачами.

Классические методы мониторинга больших посевных площадей зачастую являются мало эффективными, достаточно длительными по времени и требуют немалых затрат, что влияет на точность и оперативность представления данных о распределении фузариозной инфекции в пределах конкретного поля и часто приводит к чрезмерному использованию пестицидов. Методы дистанционного зондирования могут быть ключевым дополнением интегрированной системы защиты растений, позволяющим осуществлять мониторинг болезней на всех посевных площадях и обеспечивать точное и своевременное обнаружение заболевания.

Изображения беспилотных летательных аппаратов (БПЛА) идеально подходят для мониторинга болезней сельскохозяйственных культур, поскольку они отличаются высоким пространственным разрешением и гибким временем получения. В исследовании использовались данные, полученные при помощи БПЛА DJI Phantom 4 Multispectral в 2021 году и БПЛА с фиксированным крылом Геоскан 201 с мультиспектральной камерой MicaScence RedEdge в качестве полезной нагрузки в 2022 году. Указанные мультиспектральные камеры снимают в пяти диапазонах (blue, green, red, red edge, near infrared). Пространственное разрешение снимков в 2021 году составляло 17 см/пиксель, в 2022 году – 27 см/пиксель.

Объектом исследования являлись посевы пшеницы (2022 г.) на территории Красноярского НИИСХ ФИЦ КНЦ СО РАН вблизи пос. Миино (южная часть Красноярской лесостепи, в 5-7 км от г. Красноярск, Средняя Сибирь, Красноярский край). Высокая плотность посадки пшеницы, а также подходящие климатические и почвенные условия в районе исследования способствуют массовому и стремительному развитию грибов рода *Fusarium*, в резуль-

тате чего они являются одними из основных возбудителей заболевания пшеницы в регионе исследования. В год исследования и предшествующий год (2021 г.) на обследуемой территории выращивали пшеницу сорта «Красноярская 12»; в 2019 году поля были паровыми. Химический препарат «Хет-Трик» (инсектофунгицидный системный протравитель семян зерновых культур для борьбы с вредителями и болезнями) применяли для предпосевной обработки семян согласно рекомендациям производителя.

По результатам анализа данных дистанционного зондирования выбрано двадцать участков, потенциально отнесенных к очагам фузариозной инфекции. Для дальнейших микологических исследований было выбрано восемь ключевых участков по результатам визуальной полевой диагностики.

Грибы выделяли в чистую культуру из образцов зерна и листьев методом накопления во влажной камере с последующим переносом на питательные среды. Видовую идентификацию осуществляли на основании результатов культурально-морфологических и молекулярно-генетических исследований [1-4]. Мицелий и репродуктивные структуры моноспоровых культур изучали в микрокамерах методами светопольной (микроскоп *Nikon Eslipse Ci, x1000*) и растровой электронной микроскопии (микроскоп *Hitachi SU3500, x1000-7000*). Видовую идентификацию подтверждали секвенированием участков генетических маркеров TEF и RPB2 на базе *Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Netherlands* [1]. Фитопатогенные свойства оценивали по модифицированной методике Челковского-Манки с использованием семян и проростков пшеницы [5].

В результате проведенных исследований было установлено, что структура фитопатогенного комплекса грибов рода *Fusarium* представлена шестью видами: *Fusarium acuminatum* Ellis & Everh., *Fusarium annulatum* Bugnic., *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc., *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc., *Fusarium odoratissimum* Maryani, L. Lombard, Kema & Crous, *Fusarium sporotrichioides* Sherb. (современное название *Fusarium chlamydosporum* Wollenw. & Reinking). Доминирующее положение при исследовании зерна занимали виды *F. acuminatum* и *F. avenaceum* – их доля составила соответственно 22 и 24 %.

Все исследуемые штаммы грибов проявляли фитопатогенные свойства в отношении тест-объектов, но с различной интенсивностью: угнетение развития проростков пше-

ницы варьировало от 29 до 83 % по сравнению с контролем. Максимальная фитопатогенность отмечена для штаммов *F. sporotrichioides* – ингибирование развития проростков составило 67-83 %. Под действием штаммов всех изученных видов отмечено появления некротических зон на стеблевой и корневой частях растений интенсивностью от 1 до 3 баллов; максимальные поражения наблюдали в области корневого чехлика.

Таким образом, первичные данные о возможном наличии фузариозной инфекции в посевах пшеницы, полученные в ходе дистанционного зондирования, были подтверждены результатами микологического обследования растительных образцов из отобранных участков полей. Всего было выявлено шесть видов грибов рода *Fusarium*, обладающих различной степенью фитопатогенности, определены доминирующие на данных участках виды.

В дальнейшем полученные данные дистанционного зондирования с использованием БПЛА и результаты микологических исследований с молекулярно-генетической идентификацией фитопатогенных видов рода *Fusarium* будут использованы для обучения системы искусственного интеллекта. Неотъемлемыми атрибутами системы также являются данные, характеризующие особенности выращиваемой культуры, почвенно-климатические условия и их динамика, севообороты.

Список литературы

1. Crous P.W., Lombard L., Sandoval-Denis M. et. al. *Fusarium: more than a node or a foot-shaped basal cell* // *Studies in mycology*. 2021. Т. 95. Р. 5-408.
2. Leslie J. F., Summerell B.A. *The Fusarium laboratory manual*. USA: Blackwell Publishing, 2006. 388 p.
3. Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O. *Fusarium species: an illustrated manual for identifications*. The Pennsylvania State University Press, 1983. 193 p.
4. Методы экспериментальной микологии / под ред. В.И. Билай. Киев: Наукова думка, 1982. 550 с.
5. Гагкаева Т.Ю. Фитопатогенный гриб *Fusarium cerealis* на территории России // *Микология и фитопатология*. 2009. Том 43. Вып.4. С. 331-339.

ФИТОСАНИТАРНАЯ ДИАГНОСТИКА ПОСЕВОВ КОРМОВЫХ КУЛЬТУР

Разгуляева Н.В., Костенко Н.Ю., Благовещенская Е.Ю.
ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса», Лобня

Системно-экологическое направление развития защиты растений повышает значимость мониторинга вредных организмов для принятия решений по разработке и применению систем интегрированной защиты растений. Фитосанитарный мониторинг и в его составе фитосанитарная диагностика служат исходной предпосылкой для разработки фитосанитарных технологий с целью долговременной и оперативной фитосанитарной оптимизации агроэкосистем.

Возделывание устойчивых к болезням сортов многолетних кормовых культур является важнейшим условием стабильного обеспечения животноводства высококачественными кормами. Расчеты подтверждают, что изменение соотношения в пользу сортов, устойчивых к болезням и вредителям, равносильно увеличению посевных площадей на 16-20% [1].

Фитосанитарная диагностика является составной частью мониторинга. Фитосанитарная диагностика включает диагностику объектов фитосанитарного мониторинга (фи-

топатоенов, фитофагов, сорных растений) и диагностику складывающейся фитосанитарной ситуации в агроэкосистемах, севооборотах и агроландшафтах.

Кроме определения больных и поврежденных растений, в диагностику объектов входит идентификация качественного состава популяций: видов, форм, рас, штаммов, структуры генома растений и вредных организмов, а также вирулентности, агрессивности вредных организмов, их резистентности к пестицидам и фитотоксичности. При этом используются методы микологической, вирусологической, бактериологической, энтомологической индикации, а также биологического, биохимического, молекулярно-генетического тестирования биообъектов и анализа их свойств [2].

В условиях Нечерноземной зоны России основными кормовыми культурами являются многолетние травы, а среди них – клевер, тимофеевка, кострец, райграс, ежа и др.

Наибольшую опасность для многолетних кормовых трав представляют болезни, вызываемые грибами родов *Fusarium Link*, *Sclerotinia Fuckel*, *Helminthosporium Link* и др. В связи с этим, основным направлением исследований является фитосанитарный мониторинг посевов, позволяющий не только выявить основные болезни, но и спрогнозировать на основании многолетних данных по развитию заболеваний главные направления селекции на устойчивость к конкретным патогенам. Значительно облегчает аналитическую работу с многолетними данными создание электронной базы фитосанитарного мониторинга [3].

Целенаправленные исследования по фитосанитарному мониторингу посевов кормовых культур в ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса» проводятся с 1996 года.

Согласно литературным источникам на клевере луговом встречается более 50 возбудителей заболеваний [4]. Болезни являются причиной значительного недобора семян. Щуплые семена, полученные от больных растений, имеют низкую всхожесть, а также могут стать причиной заноса возбудителей в новые поля.

Развитие комплекса болезней на надземных органах снижает урожай фуражной массы и его качество. Болезни корневой системы приводят к гибели растений.

Анализ данных фитосанитарного мониторинга показывает, что в условиях Московской области на клевере луговом встречается 15 заболеваний. Из них наиболее частыми являются 7 – склеротиниоз (рак), корневые гнили, бурая пятнистость, антракноз, аскохитоз, ржавчина, мучнистая роса. Также установлено, что за последние годы произошли изменения в соотношении видов в составе популяции возбудителей фузариоза. Нарастает пораженность растений антракнозом и бурой пятнистостью.

Многолетний фитосанитарный мониторинг основных болезней на клевере луговом, позволил выявить динамику пораженности растений. Так, у ржавчины пики нарастания пораженности происходят раз в три-четыре года, а у мучнистой росы – раз в три года

Для эффективного планирования и использования методов защиты большое значение имеют не только данные по мониторингу болезней, но и знание факторов, благоприятствующих их развитию.

Распространенность болезней существенно различается по годам. В связи с этим, нами была предпринята попытка, основываясь на данных по биологии возбудителя, выявить влияние погодных факторов на развитие заболеваний [5].

Анализ многолетней динамики распространенности болезней клевера лугового показал, что развитие ржавчины (возбудитель – *Uromyces fallens* (Desm.) Barthol.) обрат-

но пропорционально количеству осадков в июне. Развитие бурой пятнистости (возбудитель – *Pseudopeziza trifolii* (Biv.) Fuckel) прямо пропорционально количеству осадков за май-июнь. Развитие аскохитоза (возбудитель – *Ascochyta trifolii* Siemaszko) определяется преимущественно величиной снежного покрова.

Введение эмпирических поправок на неблагоприятное воздействие экстремальных значений среднемесячных температур и количества осадков существенно увеличивает согласованность вычисленных показателей со значениями многолетней динамики распространенности болезней.

Исследования по определению распространенности заболеваний в посевах многолетних злаковых трав и идентификация фитопатогенных объектов в лаборатории иммунитета ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса» проводятся с 1996 года. Ежегодное обследование пораженности болезнями посевов позволило выявить свыше 20 патогенов, паразитирующих на растениях в различные фенологические фазы.

Ранней весной, в период активного таяния снега на кормовых злаковых травах можно наблюдать развитие снежной плесени. Интенсивность развития болезни в сильной степени зависит от условий окружающей среды. Высокий снежный покров, неглубокое промерзание почвы, медленное таяние снега весной способствуют выпреванию растений.

В 2020-2021 годах климатические условия оказались благоприятными для перезимовки многолетних злаковых трав. После дружного таяния снега наблюдалось активное отрастание изучаемых растений. Визуальные симптомы поражения возбудителем снежной плесени были отмечены лишь на посевах райграса пастбищного. Интенсивность поражения составляла 1 балл, при среднем многолетнем значении 3 балла. Площадь пораженных участков не превышала 2-3см, и они преимущественно располагались на затененных и пониженных участках поля. На посевах ежи сборной, тимофеевки луговой и костреца безостого развития снежной плесени не наблюдалось (табл. 1).

Проведенные многолетние исследования показали, что наиболее широко распространенными болезнями на кормовых злаковых травах являются пятнистости листьев. Эти заболевания способствуют существенному снижению урожайности и качества семян и зеленой массы.

После весеннего отрастания на растениях тимофеевки луговой наблюдается развитие 2 пятнистостей – сколекотрихоза и гетероспориоза.

В фазу начала созревания семян в 2021 году доминирующим заболеванием являлся гетероспориоз, распространенность которого составила 80%, против средней многолетней – 66%.

Развитие сколекотрихоза достигло 50%, что практически было на уровне среднего многолетнего показателя – 45%.

Комплексное поражение растений тимофеевки луговой возбудителями вышеуказанных пятнистостей способствовало преждевременному засыханию и опадению листьев, что в конечном итоге снижало урожай семян.

На посевах тимофеевки луговой 3 года пользования развитие чехловидной болезни составило 4%, что на 1% ниже, чем среднее многолетнее значение.

В 2021 году на обследованных сортообразцах возбудителей ржавчины и спорыньи обнаружено не было.

На посевах райграса пастбищного ежегодно диагностируется поражение растений гельминтоспориозной пятнистостью.

В 2021 году распространенность гельминтоспориоза составила 50% при средней многолетней 65%.

Таблица 1. Фитосанитарный мониторинг посевов многолетних злаковых трав

№ п/п	Название культуры и болезнь	Распространенность болезни, %		
		2020г	2021г	Среднее значение многолетнее
1	<u>Тимофеевка луговая</u>			
	Снежная плесень	1	0	1
	Чехловидная болезнь	3	4	5
	Гетероспориоз	50	80	66
	Сколекотрихоз	30	50	45
	Корончатая ржавчина	0	0	1
	Спорынья	0	0	1
2	<u>Райграс пастбищный</u>			
	Снежная плесень	2	1	3
	Гельминтоспориоз	60	50	65
	Стеблевая ржавчина	0	5	4
	Спорынья	0	0	1
3	<u>Ежа сборная</u>			
	Снежная плесень	2	0	2
	Мучнистая роса	0	0	1
	Мастигоспориоз	80	75	67
	Сколекотрихоз	100	70	71
	Спорынья	0	1	1
4	<u>Кострец безостый</u>			
	Снежная плесень	0	0	1
	Гельминтоспориоз	100	100	100
	Бурая ржавчина	0	2	2
	Спорынья	0	1	1

В фазу созревания семян наблюдалось сильное распространение стеблевой ржавчины, достигающей на отдельных сортообразцах 100%, при интенсивности поражения 4 балла.

На сортообразцах ежи сборной, как и в предыдущие годы исследований, было отмечено интенсивное развитие двух пятнистостей – мастигоспориоза и сколекотрихоза. Распространенность сколекотрихоза составила 70%, что практически оказалось на уровне средней многолетней (71%).

Доминирующим заболеванием в фазу начала созревания семян была белая пятнистость (мастигоспориоз), распространенность которой составляла 75%, что на 12% выше средней многолетней.

Растения костреца безостого ежегодно поражаются возбудителем гельминтоспориоза. Первые симптомы поражения появляются на молодых листьях во время весеннего отрастания. Максимального развития болезнь достигает уже в фазу цветения и составляет 100%.

Список литературы

1. Фадеев Ю.Н. Принципиальные вопросы иммунитета растений к вредным организмам // Сельскохозяйственная биология. – 1976. – Т. 2. № 1. – С. 131-134.

2. Фитосанитарный экологический мониторинг: метод. указания / Новосиб. гос. аграр. ун-т. Агроном. фак; сост.: Е.Ю. Торопова, А.А. Кириченко. – Новосибирск: Изд-во НГАУ, 2012. – 16 с.
3. Сорты кормовых культур селекции ФГБНУ «Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р.Вильямса»: монография / ФНЦ «ВИК им.В.Р.Вильямса». – М.: ООО «Угрешская типография», 2019. – 92с.
4. Миняева О.М. Болезни клевера. / Клевер. – М., 1963. – С. 376-404.
5. Разгуляева Н. В., Благовещенская Е.Ю. Влияние погодных условий на развитие грибных болезней клевера лугового (*Trifolium pratense* L.). В сб.: Проблемы микологии и фитопатологии в XXI веке, материалы Международной научной конференции, посвященной 150-летию со дня рождения члена-корреспондента АН СССР, профессора Артура Артуровича Ячевского. – 2013. – С. 223-225.

КОМБИНИРОВАННЫЕ ФУНГИЦИДЫ ДЛЯ ЗАЩИТЫ СВЕКЛЫ САХАРНОЙ ОТ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ РАТА

Ревкова М.А.,¹ Кунгурцева О.В.^{1,2}
ФГБНУ ВИЗР, Санкт-Петербург – Пушкин
ООО «ИЦЗР», Санкт-Петербург – Пушкин

Введение.

Сахарная свекла является одной из ряда культур, обеспечивающих продовольственную безопасность страны. Она принадлежит к рентабельным культурам и имеет высокое значение для экономики государства [1, 2].

Основными и наиболее благоприятными районами для выращивания сахарной свеклы являются: Центрально-Черноземный, Северо-Кавказский и Поволжский экономический район, где сосредоточено более 50% всех посевных площадей данной культуры [3].

Урожайность сахарной свеклы зависит от многих факторов, в том числе и от интенсивности поражения заболеваниями. Наиболее вредоносными из них являются церкоспороз, фомоз, альтернариоз и мучнистая роса.

Церкоспороз является одним из самых распространенных заболеваний сахарной свеклы. Возбудитель – гриб *Сercospora beticola*, поражает, кроме сахарной свеклы, кормовую и столовую свеклу. Заболевание нарушает физиологические процессы в растениях: усиливается транспирация, снижается фотосинтез. Недобор урожая корнеплодов может достигать 30-70%, а сахаристость свеклы может упасть на 50%. Болезнь проявляется в виде округлых, многочисленных с красной каймой некрозов [4].

Фомоз или зональная пятнистость листьев сахарной свеклы, возбудитель - гриб *Phoma beta*), встречается повсеместно во всех свеклосеющих районах. Фомоз проявляется в виде постоянно разрастающихся пятен бурого цвета. На пораженных корнеплодах гриб вызывает сухую гниль коричневатого-черного цвета [5].

Возбудителем альтернариоза свеклы является *A. alternata* (Fr.) Keissl. На листьях растения появляются темно-коричневые или черные округлые пятна, неправильной формы, диаметром от 3 до 12 мм. Одним из характерных признаков заболевания является появление черного бархатистого налета из мицелия гриба в теплую и дождливую погоду.

Мучнистая роса *Erysiphe communis f. Betae* вызывает усиление транспирации растений, нарушает процессы синтеза сахаров и других органических соединений. Заболевание проявляется на листьях с верхней и нижней стороны в виде белого налета, который становится плотным и может перейти на стебли и клубочки свеклы [4].

Одним из основных элементов современной технологии выращивания сахарной свеклы является химическая защита посевов от фитопатогенов.

Для получения высоких урожаев необходимо использовать пестициды с максимальной степенью защиты. В последние годы для защиты сахарной свеклы от вышеперечисленных заболеваний появились в ассортименте новые препараты: Протазокс, КС (200 г/л азоксистробина +

125 г/л протиоконазола + 60 г/л дифеноконазола) и Геката, КМЭ (120 г/л дифеноконазола + 60 г/л тетраконазола). Действующие вещества протиоконазол, дифеноконазол и тетраконазол относятся к химическому классу триазолов.

Протиоконазол обладает широким фунгицидным спектром, превосходной биодоступностью и длительной эффективностью, представляет собой системный фунгицид с защитными и лечебными свойствами.

Дифеноконазол является системным фунгицидом, препарат сорбируется растениями, оказывая защитное и лечебное действие, проникая в ткани растения, полностью ингибирует рост субтикулярного мицелия, снижает уровень спороношения патогена [5].

Тетраконазол имеют широкий спектр фунгицидного действия, оказывая сильное лечебное действие, имеет длительный период применения. Механизм действия заключается в подавлении биосинтеза эргостерина. Под влиянием данных действующих веществ патогенный гриб через несколько дней после прорастания приостанавливает развитие спор [6].

Азоксистробин относится к классу стробилуринов, является контактным фунгицидом с лечащим действием. Фунгицидное действие азоксистробина обусловлено способностью вещества подавлять митохондриальное дыхание клеток патогена [6].

Материалы и методы.

Оценка биологической эффективности препаратов Протазокс, КС и Геката, КМЭ была проведена в течение 2017-2019 гг. в двух почвенно-климатических зонах: в Волгоградской, Воронежской областях и в Краснодарском крае.

В качестве эталона в вариантах с препаратом Протазокс, КС применяли Аканто Плюс, содержащий 200 г/л пикоксистробина и 80 г/л ципроконазола. Эталоном к препарату Геката, КМЭ послужил фунгицид Бродер, КЭ, содержащий 150 г/л дифеноконазола и 150 г/л пропиконазола. Исследования проводили на гибридах Деметер, Дженни, Спартак, Кандимакс, районированных в данных регионах и восприимчивых к болезням. Опыты и учеты проводили согласно Методическим указаниям по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве [7, 8].

Опрыскивание проводили 2-хкратно в фазы с начала смыкания рядков до полного смыкания рядков.

Результаты.

Опыты по установлению биологической эффективности препарата Протазокс, КС против церкоспороза показали высокие результаты в Воронежской области (85-91%) при развитии болезни в контроле 18,7% (табл. 1). По эффективности эталон Аканто Плюс, КС был близок изучаемому препарату (80-85%).

Таблица 1. Эффективность применения препарата Протазокс, КС на свёкле сахарной (2017-2018 гг.)

Препарат; норма применения (л/га)	Эффективность, %		Сохраненный урожай, %
	церкоспороз	фомоз	
Краснодарский край			
Протазокс, КС; 0,75-1,0	69-75	76-82	10,9
Аканто Плюс, КС; 0,6 (эталон)	61-69	74-83	8,9
Контроль	15,9*	22,9	-
Воронежская область			
Протазокс, КС; 0,75-1,0	85-91	82-93	8,5
Аканто Плюс, КС; 0,6 (эталон)	80-85	78-88	5,1
Контроль	18,7*	12,3	-
Волгоградская область			
Протазокс, КС; 0,75-1,0	50-57	55-62	5,3
Аканто Плюс, КС; 0,6 (эталон)	47-64	54-60	4,1
Контроль	24,5*	18,5	-

** - среднее развитие болезни в контрольном варианте, %

В Краснодарском крае применение препарата Протазокс, КС было на уровне показателя эталона Аканто Плюс и снижало развитие болезни до 75% при развитии болезни в контроле 15,9%.

В Волгоградской области эффективность испытываемого препарата достигала 57% при более высоком развитии болезни в контроле (24,5%). Применение препарата Аканто Плюс, КС снижало развитие болезни на 64%.

Против фомоза изучаемый препарат Протазокс, КС показал наилучшие результаты в Воронежской области: до 93% при сравнительно невысоком развитии болезни в контроле (12,3%). Эффективность эталона Аканто Плюс, КС снижало развитие болезни на 88%.

Применение препарата Протазокс, КС в Краснодарском крае снижало развитие фомоза на 82% при развитии болезни в контроле 22,9%. В Волгоградской области данный показатель составил 55-62% при развитии болезни в контроле 18,5%. Эффективность эталона Аканто Плюс, КС снижало развитие болезни в Краснодарском крае на 83%, в Волгоградской области - на 60%.

Развитие мучнистой росы в годы исследований отмечалось только в Воронежской области. Эффективность изучаемых препаратов достигала 95-100% при среднем развитии болезни в контроле 21,0%.

Оценка эффективности препарата Геката, КМЭ показала, что наилучшие результаты против церкоспороза были получены в Краснодарском крае (эффективность достигала 79%) при развитии болезни в контроле 16,3% (табл. 2).

В Воронежской и Волгоградской областях эффективность исследуемого препарата была несколько ниже: 68-75% (в Воронежской области, при развитии болезни в контроле 25,7%); 52-73% (в Волгоградской области, при

развитии болезни в контроле 19,3%). Эффективность препарата Геката, КМЭ была сопоставима с показателями эталона Броадер, КЭ (65-73%)

Против фомоза фунгицид Геката, КМЭ также показал высокую эффективность в Краснодарском крае (до 80%) при эффективности в варианте с эталоном Броадер (62-76%). Развитие болезни в контроле достигало 21,8%. В Воронежской области эффективность препарата Геката, КМЭ составила 57-73% и была на уровне показателя эталона (55-68%) при среднем развитии болезни в контроле 13,5%.

В Волгоградской области применение препарата Геката, КМЭ снижало развитие болезни на 63-72%; эффективность эталона составила 61-69% при развитии болезни в контроле 18,2%.

Величина сохраненного урожая сахарной свеклы варьировала в пределах от 3,8-10,2%.

Таким образом, в результате проведенных нами исследований было установлено, что применение препаратов Протазокс, КС в нормах применения 0,75-1,0 л/га и Геката, КМЭ в нормах применения 0,6-0,8 л/га на посевах сахарной свеклы позволяет контролировать развитие возбудителей церкоспороза, фомоза, альтернариоза и мучнистой росы на экономически безопасном уровне и получать существенную прибавку урожая.

Таблица 2. Эффективность применения препарата Геката, КМЭ на свёкле сахарной (2017-2019 гг.)

Препарат; норма применения (л/га)	Эффективность, %		Сохраненный урожай, %
	церкоспороз	фомоз	
Краснодарский край			
Геката, КМЭ; 0,6-0,8	72-79	73-80	23,3
Броадер, КЭ; 0,3 (эталон)	65-73	62-76	15,6
Контроль	16,3*	21,8	-
Воронежская область			
Геката, КМЭ; 0,6-0,8	68-75	57-73	7,1
Броадер, КЭ; 0,3 (эталон)	64-70	55-68	4,1
Контроль	25,7*	13,5	-
Волгоградская область			
Геката, КМЭ; 0,6-0,8	52-73	63-72	5,3
Броадер, КЭ; 0,3 (эталон)	50-68	61-69	6,5
Контроль	19,3*	18,2	-

* - среднее развитие болезни в контрольном варианте, %

Список литературы

1. Мерзликин М.А., Минакова О.А., Гамуев О.В., Вилков В.М. Биологически и экологически эффективная система защиты сахарной свеклы в Центрально-Черноземном районе // Вестник Курганской ГСХА. 2021. №3. С. 4-10
2. Сушков М.Д. Сахарная свекла как основной источник получения сахара в нашей стране // Достижения науки и техники АПК. 2006. № 10. С. 54-55.
3. Цыба Я.И., Смоляная Н.М. Эффективность фунгицидов в защите сахарной свеклы от церкоспороза в условиях центральной зоны Краснодарского края // Сборник статей по материалам IX Всероссийской конференции молодых ученых. 2015. С. 248-249.
4. Ахатов А.К., Ганнибал Ф.Б. и др. / Болезни и вредители овощных культур и картофеля. 2013. С. 341-346.
5. P. Jeschke, Pest Management Science, Progress of modern agricultural chemistry and future prospects. 2015. № 72. P. 433-455
6. С. Tomlin. The Pesticide Manual. 2006. P. 253, 797
7. Долженко В.И. Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве. – 2009. СПб: ВИЗР. 378 с.
8. Методические указания по регистрационным испытаниям пестицидов в части биологической эффективности. – 2019. М., ФГБНУ «Росинформагротех». -80 с.

ИНФИЦИРОВАНИЕ ЗЕРНА ЯРОВОГО ТРИТИКАЛЕ МИКРООРГАНИЗМАМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СИСТЕМЫ ЗЕМЛЕДЕЛИЯ В УСЛОВИЯХ СЕВЕРНОГО КАЗАХСТАНА

Рукавицина И.В., Ткаченко О.В.

ТОО «Научно-производственный центр зернового хозяйства им. А. И. Бараева», Научный, Казахстан

Изучение вопроса зараженности зерна сельскохозяйственных культур микроорганизмами, в том числе и фитопатогенными, является весьма актуальным, поскольку зерно представляет собой стратегический вид продовольствия.

Особую опасность представляет обсеменение зерна микроскопическими грибами и спорообразующими бактериями, способными продуцировать ядовитые вещества химической природы. Употребление в пищу продуктов, загрязненных патогенной микрофлорой, может способствовать развитию различных заболеваний человека [1].

Микробиологическое загрязнение зерна считается глобальной проблемой в мировом масштабе и находится в центре внимания таких международных организаций, как ВОЗ, ФАО, ЮНЕП, МАИР и др. В настоящее время микробиологические инфекции по сравнению с бактериальными и вирусными становятся более агрессивными, многие виды микроскопических грибов вызывают у человека микозы, аллергические заболевания, микотоксикозы [2].

В наших исследованиях по выявлению инфицированности зерна фитопатогенными и другими микроорганизмами изучалось яровое тритикале, малоизученный вид хлебных злаков, обладающий высоким биологическим потенциалом и пищевой ценностью. По содержанию белка зерно тритикале превосходит не только зерно ржи, но и зерно мягкой пшеницы [3,4].

В Казахстане яровое тритикале в настоящее время не получило широкого распространения, но оно привлекает внимание ученых и переработчиков своими высокими хлебопекарными свойствами.

Цель исследований - изучение распространения эпифитных микроорганизмов на зерне тритикале и его зараженность (скрытая инфекция) фитопатогенными грибами при традиционном и органическом земледелии.

Материалы и методы исследования. Отбор зерна ярового тритикале (сорт Росинка) был проведен в послеуборочный период (2018-2020 гг.) с различных агрофонов на стационарах лаборатории агрохимии ТОО «НПЦЗХ им. А.И. Бараева». При традиционном земледелии тритикале высевалось по пласту многолетних трав с применением минеральных удобрений (аммофос в дозе Р40 вносился фоновно при обработке пара; аммиачная селитра в рядки при посеве в дозе N20, N40, N60, N80). По органической системе - по пласту многолетних бобовых (эспарцет, люцерны, донник) и злаковых трав (кострец, житняк), внесенных в пар в качестве удобрений в виде надземной биомассы.

Отбор проб зерна тритикале проведен согласно ГОСТ 13586.3-2015 [5]. Микробиологический состав зерна определяли методом посева на агаризованные среды (Чапек, МПА, КАА) [6]. Для выделения грибов рода *Alternaria* spp., *Fusarium* spp. из зерна тритикале использовали среду Чапек-Докса, КДА [7]. Для идентификации микромицетов использовали классические и молекулярно-генетические методы.

Результаты и обсуждение. Результаты микробиологических исследований показали, что независимо от применяемой системы земледелия поверхность зерна тритикале

было загрязнено различными видами бактерий и грибов. Согласно полученным данным, прослеживалась четкая тенденция снижения численности микромицетов в сравнении с бактериями, как при традиционном, так и при органическом земледелии, что вероятно обусловлено слабой концентрацией питательных веществ, препятствующей их размножению.

Зерно тритикале, полученное с вариантов по системе органического земледелия, было значительно загрязнено эпифитными микроорганизмами. Так, численность аммонификаторов колебалась от $4,4 \times 10^3$ КОЕ/г зерна до $7,3 \times 10^3$ КОЕ/г зерна (вариант с биомассой житняка и эспарцета соответственно) в сравнении с традиционной системой $2,8 \times 10^3$ – $4,7 \times 10^3$ КОЕ/г зерна соответственно. Имобилизаторы составляли $2,9 \times 10^3$ КОЕ/г зерна - $5,5 \times 10^3$ КОЕ/г зерна (вариант с биомассой житняка и костреца соответственно), грибы от $0,3 \times 10^3$ до $0,6 \times 10^3$ КОЕ/г зерна, с преобладанием на варианте с внесенной биомассой житняка и костреца. Независимо от системы земледелия прослеживалась тенденция доминирования бактериальной обсемененности зерна тритикале, нежели грибной.

При традиционном земледелии среди эпифитных микроорганизмов на зерне тритикале преобладали аммонификаторы от $2,9 \times 10^3$ КОЕ/г зерна при внесении в почву аммиачной селитры в дозе N60 до $4,7 \times 10^3$ КОЕ/г зерна (в дозе N20). Обсемененность бактериями, ассимилирующими неорганический азот также присутствовала, но значительно меньше до $3,6 \times 10^3$ КОЕ/г зерна, а численность грибов составляла порядка $0,2 - 0,79 \times 10^3$ КОЕ/г зерна.

Среди эпифитов были выделены бактерии аммонификаторы: *Pseudomonas syringae*, *Bacillus simplex*, *Kurthia gibsonii*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus aloeverae*, *Pantoea agglomerans*, а также *Pseudomonas deceptionensis*, *Bacillus safensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus simplex*, *Bacillus aryabhatai*, *Bacillus megaterium*.

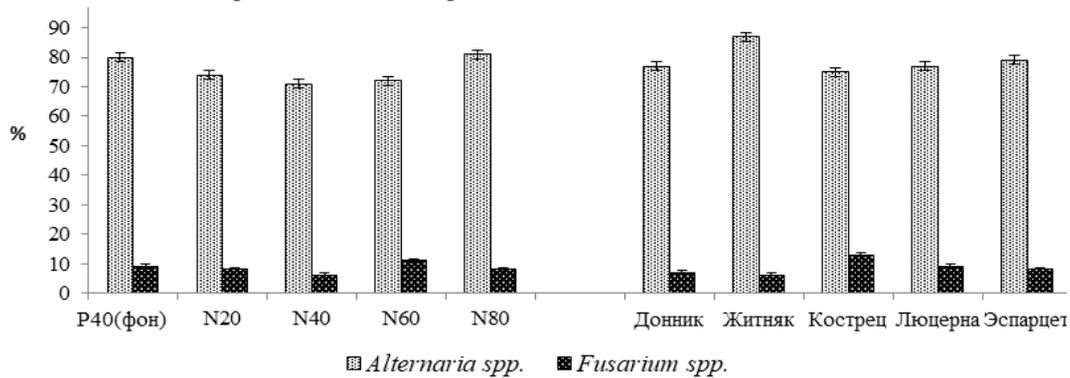
Результаты статистических исследований показали, что влажность зерна ярового тритикале, полученного по органической системе, оказала влияние на распространение микроскопических грибов на поверхности зерна, что подтвердилось выявленной прямой коррелятивной связью средней степени ($r=0,63 \pm 0,22$; $dx_y=0,40$ или 40% влияния). Влияние влажности зерна на контаминацию бактериями аммонификаторами и иммобилизаторами была несущественной и практически отсутствовала. Прямая коррелятивная связь сильной степени ($r=0,78 \pm 0,17$; $dx_y=0,62$ или 62% влияния) была установлена между бактериями иммобилизаторами и грибами при традиционном земледелии.

Поскольку грибы являются потенциальными возбудителями болезней зерна, а многие виды способны продуцировать микотоксины, был проведен микробиологический анализ зерна тритикале, отобранного в период 2018-2020 гг., для выявления скрытой грибной инфекции.

При анализе установлено, что практически все образцы были поражены микроскопическими грибами независимо от системы земледелия. В грибном патоккомплексе доминировали грибы рода *Alternaria* spp. (до 98%), виды *Fusarium* spp. составляли до 20% (рисунок 1).

Рис. 1 (с.309) – Заражение зерна ярового тритикале фитопатогенными грибами (скрытая инфекция) в зависимости от системы земледелия (среднее за 2018 -2020 гг.)

Система земледелия: А - традиционная, В – органическая



На рисунке 2 представлено зерно тритикале, зараженное грибами *Alternaria spp.* и *Fusarium spp.*

Рис. 2 – Инфицирование зерна тритикале фитопатогенными грибами в зависимости от системы земледелия



а - традиционная система земледелия (аммиачная селитра в рядки при посеве тритикале в дозе N60); б - органическая система земледелия (тритикале по биомассе кострца).

При традиционном земледелии зараженность зерна грибами рода *Alternaria spp.* колебалась от 71% (вариант с внесением аммиачной селитры в дозе N40) до 81% (аммиачная селитра в дозе N80) и *Fusarium spp.* – от 6% (вариант с внесением аммиачной селитры в дозе N40) до 11% (аммиачная селитра в дозе N60).

При органическом земледелии эти показатели были значительно выше. Так, зараженность грибами *Alternaria spp.* варьировала от 75% (вариант с биомассой кострца) до 87% (биомасса житняка), *Fusarium spp.* – от 6% (вариант с биомассой житняка) до 13% (с биомассой кострца).

Следует отметить, что в среднем за три года исследований зерно ярового тритикале оказалось более подвержено инфицированию грибами *Fusarium spp.* (на 6-17%) при органическом земледелии в сравнение с традиционным.

Преобладание фитопатогенных грибов в зерне тритикале при органическом земледелии объясняется полным отсутствием применения пестицидов, что в свою очередь создает определенные условия для распространения микроорганизмов, в том числе и фитопатогенных на сорной растительности, которая преобладала на органическом фоне. Невысокая степень инфицирования зерна грибами *Fusarium spp.*, в сравнение с грибами *Alternaria spp.*, объясняется снижением их численности в почве, благодаря агротехническим приемам (обработка почвы, севооборот), способствующим снижению численности фитопатогенов.

Выводы. Распространение эпифитных микроорганизмов (грибов и иммобилизаторов) на зерне ярового тритикале, было значительно ниже на варианте с биомассой донника при органическом земледелии. Более активно эти микроорганизмы были распространены на зерне, полученном на варианте с внесенной в почву биомассой кострца и житняка.

Независимо от системы земледелия и варианта опыта поражение зерна ярового тритикале грибами рода *Alternaria spp.* достигало 98%, а *Fusarium spp.* до 20%.

При органическом земледелии зараженность зерна тритикале грибами *Alternaria spp.* составляло порядка 87%, *Fusarium spp.* - до 13%, что было выше на 6-7%, чем при традиционном земледелии.

Благодарности: Работа выполнена в рамках ПЦФ МОН РК «Управление экологическими рисками при производстве зерна на основе различной степени интенсификации земледелия в целях предотвращения неблагоприятных эффектов для здоровья населения и окружающей среды» (№ BR05236351).

Список литературы

1. Эл. Ресурс: http://tvoydohod.ru/tovar_53.html. Безопасность пищевых продуктов.
2. Оспанов А.А., Муслимов Н.Ж., тимурбекова А.К., Джумабекова Г.Б. Исследования по определению показателей пищевой безопасности отобранных образцов зерна отечественных сортов селекции // Исследования, Результаты. – 2015. - № 3. – С.103-111.
3. Витол И.С., Карпиленко Г.П., Кандроков Р.Х., Стариченков А.А., Коваль А.И., Жильцова Н.С. Белково-протеиновый комплекс зерна тритикале // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2015. - № 8. - С.36-38.
4. Чиркова Л.В., Кандроков Р.Х., Панкратов Г.Н. Тритикале: 140 лет истории. От зерна к муке // Кондитерское и хлебопекарное производство. - 2015. - № 9. - С. 8-9.
5. ГОСТ 13586.3-2015 Зерно. Правила приемки и методы отбора проб.
6. Мишустин Е.Н., Трисвятский Л.А. Микробиология зерна и муки. – М., 1960. - 407 с.

7. Способ выявления альтернариозной инфекции у семян пшеницы / А.с. №4850347/15 Карамшук З.П. - №077931 от 21.10.91.

РАЗНООБРАЗИЕ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ ГРИБОВ-ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СЕРОЙ (КРАПЧАТОЙ) СНЕЖНОЙ ПЛЕСЕНИ

¹Рязанов Е.А., ¹Мешеров А.Р., ¹Тоголева О.А., ¹Осипова Е.В., ¹Пономарева М.Л., ¹Пономарёв С.Н.,
¹Маренина Е.А., Сахабутдинов И.Т., ¹Горшков В.Ю.

¹Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр РАН»

Серая, или крапчатая снежная плесень – опасное заболевание, поражающее озимые зерновые культуры. Возбудителями заболевания являются психрофильные фитопатогенные базидиомицеты рода *Typhula*. В отличие от большинства патогенов, грибы рода *Typhula* активны зимой и поражают растения при низких температурах под снежным покровом. Уровень развития серой снежной плесени в некоторых регионах может достигать эпифитотийных значений, что приводит к значительным потерям урожая озимых культур. Несмотря на это, грибы рода *Typhula* остаются одними из наименее охарактеризованных фитопатогенов. В связи с этим целью нашего исследования было создание коллекции грибов рода *Typhula* и проведение фенотипирования и генотипирования собранных изолятов. Грибы выделяли из растений ржи, пшеницы и тритикале, пораженных снежной плесенью и отобранных из разных географических точек. Всего выделено 52 штамма, по морфологическим признакам относящихся к роду *Typhula*. На основании морфологических характеристик колоний и микроскопии наружных покровов склероциев, мы разделили собранные изоляты на 2 вида: *Typhula ishkariensis* (36 изолятов) и *Typhula incarnata* (16 изолятов).

Для генетической характеристики и оценки межвидового разнообразия мы проанализировали нуклеотидные последовательности двух таксономически информативных участков генома: фактора элонгации 1 альфа (EF-1a) и внутреннего транскрибируемого спейсера 2 (ITS2). Мы определили, что каждому изоляту соответствовал опреде-

лённый набор вариантов нуклеотидных последовательностей. Основываясь на комбинации этих последовательностей, мы распределили изоляты на 8 групп по EF-1a и на 16 групп по ITS2. Наличие нескольких вариантов последовательностей в одном изоляте может быть объяснено тем, что таллом базидиомицетов способен существовать в виде ди- и трикариотического мицелия. Следовательно, геном одной особи может содержать до трёх видов ядер различного происхождения. Мы также обнаружили взаимосвязь между нуклеотидными последовательностями EF-1a и приуроченностью изолятов *Typhula* к географической области.

Вирулентность изолятов оценивали методом отсечённых листьев на трёх культурах (рожь, пшеница, тритикале), используя закаленные и незакаленные растения. На основании результатов исследования мы разделили изоляты грибов на несколько групп по степени вирулентности. Вирулентность отдельных изолятов зависела не только от агрессивности штамма гриба и его видовой принадлежности, но и от физиологического состояния растения (закаленное/незакаленное). Это первое исследование фенотипического и генотипического разнообразия *Typhula* в России. В настоящее время мы пытаемся найти взаимосвязь между вариантом нуклеотидной последовательности (EF-1a или ITS2) и вирулентностью изолятов в различных экспериментальных условиях. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (грант № 075-15-2022-251).

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ ЛИСТОВОГО АППАРАТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Серая Л.Г., Бондарева Е.В., Голибовская С.А., Калембет И.Н., Ларина Г.Е.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии (ВНИИФ), Большие Вяземы, Московская область,

Введение. Инфекционные болезни растений вызывает обширная группа фитопатогенов – грибы, бактерии, вирусы, нематоды, которые взаимодействуют в границах растительно-микробных сообществ. Направление исследований по устойчивости растений к фитопатогенным микроорганизмам актуально и активно развивается в настоящее время [1]. Важны знания о «полезных» грибах и бактериях, которые вносят в корневую зону растений или опрыскивают водными растворами побеги и кроны, положительно влияя на повышение иммунитета растений и фунгистазис почвы [2,3]. Большой интерес для медицины, сельского хозяйства, ветеринарии и других отраслей народного хозяйства представляет вопрос об экологизированных технологиях производства лекарственного растительного сырья. В нашей стране культивируют лекарственные растения (ЛР) как сельскохозяйственную культуру около 60 видов; а также собирают урожай дикорастущих ЛР (произвольно растущие в дикой природе) – свыше 160 видов [4,5]. Создание промышленных плантаций и получение высококачественного «чистого» сырья (листья, побеги, цветы и др.) требует не только контроля на остаточные количества пестицидов, но и отсутствие фитопатогенов (их метаболитов) опасных для здоровья человека. Поэтому цель работы – изучение фитопатологии ЛР в границах растительно-микробных сообществ в условиях коллекционных посадок ботанических садов и дендрариев.

Методы и объекты. В период 2018-2022 гг. проводили ежегодный фитомониторинг на территории 1 - ВИЛАР (г. Москва), 2 - ГБС им. Н.В. Цицина РАН (г. Москва), 3 - дендрарий ВНИИ фитопатологии (Московская область) и 4 - филиала ВИЛАРа (Краснодарский край) для 381 вида, культивируемых ЛР. На участках с коллекционными посадками проводится оценка состояния ЛР методами визуальной диагностики [1]. В отобранных образцах элементов растений и почве инструментально анализируется состав и структура грибного комплекса, агрохимические свой-

ства почвы и содержание элементов в листьях (тканях) или соке растений. Во всех точках фитомониторинга наиболее широко представлены виды из семейства *Lamiaceae*, среди них выделены маркерные растения по устойчивости к микозам или листовым пятнистостям: душица обыкновенная (*Origanum vulgare*), Melissa лекарственная (*Melissa officinalis*), мята перечная (*Mentha piperita*), иссоп лекарственный (*Hyssopus officinalis*), лаванда узколистная (*Lavandula angustifolia*), котовник кошачий (*Nepeta cataria*).

Результаты и обсуждение. Погодные условия последних лет в значительной степени благоприятны для роста ЛР, а также возбудителей грибных болезней. Визуально диагностируемые симптомы болезней были: деформации, некрозы, листовые пятнистости, изменение окраски листовой пластины (таблица 1). Наиболее поражены микозами растения в коллекциях ботанических садов, в отличие от территории дендрария. По степени устойчивости к листовым пятнистостям выделены чувствительные растения душица обыкновенная, Melissa лекарственная, мята перечная и относительно устойчивые иссоп лекарственный, лаванда узколистная, котовник кошачий.

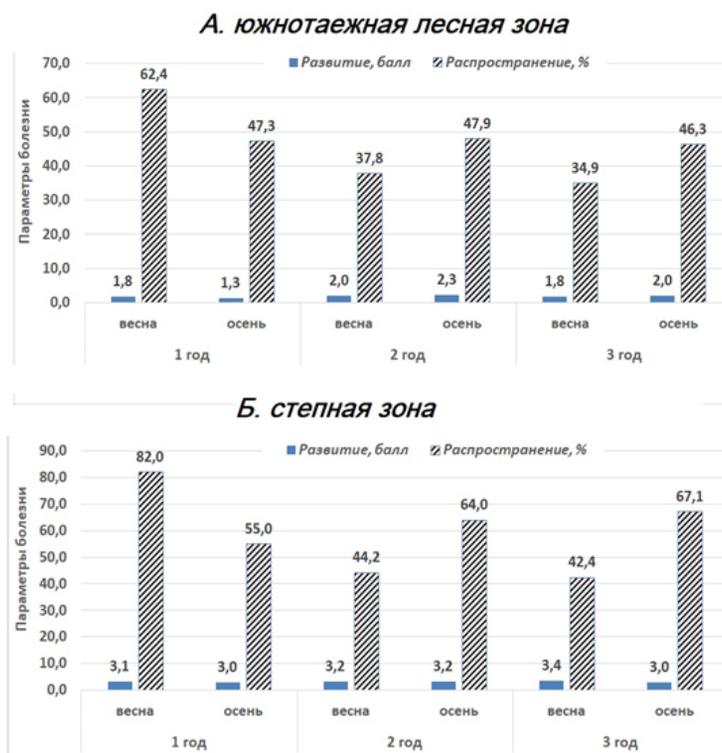
По развитию болезней определены различия в разных природных зонах (среднее развитие / распространение): лесная зона (рНвод = 6,7-7,4; содержание гумуса 1,19±0,7 %) 1,8±0,36 балл / 46,1±10,77 %, степная зона (рНвод выше 7,5; содержание гумуса 2,30±0,9 %) 3,1±0,16 балл / 59,1±16,22 %. С учетом сезона весна / осень среднее развитие микозов у ЛР в лесной зоне равнялось 1,84 / 1,83 балла, а в степной – 3,27 / 3,07 балла; по распространению листовых пятнистостей в лесной зоне – 45,2 / 47,2 % и степной зоне – 56,2 / 62,0 % (рисунок 1). Полученные данные позволяют сделать вывод о высоком фитопатогенном уровне в южных регионах и снижению устойчивости к микозам у растений интродуцируемых из лесной зоны в степную.

Таблица 1 – Фитомониторинг симптомов болезней лекарственных растений

Название растения	Лесная зона			Степная зона
	1	2	3	4
Душица обыкновенная	НП, П, КРН	Дл, П, НП, ХЗ	НП, ХЗ	АП, ХЗ, КРН
Иссоп лекарственный	НП, П, КРН, ХЗ	П, ХЗ	здоровое	КН
Котовник кошачий	НП, КРН	НП, ХЗ	здоровое	ХЗ
Лаванда узколистная	П, КРН, НП	НП, ХЗ	здоровое	НП
Мелисса лекарственная	НП, П, ХЗ	П, НП, ХЗ, КРН, АО	ХЗ	КН, АП, НП
Мята перечная	КРН, ХЗ, НП	КРН, ХЗ, Дл, НП	П	здоровое

Примечание: КРН - краевой некроз, ХЗ – хлороз, П – листовые пятнистости, НП - некротические пятна, АО - антоциановый окрас, Дл - деформация листьев, здоровое – без поражений

Рис. 1 Фитомониторинг листовых пятнистостей на участках с коллекционными посадками лекарственных растений



Инструментально определён комплекс грибов, в том числе, фитопатогенных, на элементах ЛР из семейства Lamiaceae в разных природных зонах:

А. южнотаежная лесная

1. ВИЛАР (г. Москва) *Alternaria spp.*, *Botrytis cinerea.*, *Cladosporium spp.*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium spp.*, *Peronospora spp.*, *Phoma spp.*, *Pullularia spp.*, *Septoria spp.*;

2. ГБС им. Н.В. Цицина РАН (г. Москва) *Alternaria spp.*, *Chaetomium spp.*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium solani*, *Fusarium spp.*, *Heterosporium iridis*, *Phoma spp.*, *Stemphylium spp.*, *Verticillium spp.*;

3. дендрарий ВНИИ фитопатологии (Московская область) *Acremonium sp.*, *Alternaria sp.*, *Ascochyta sp.*, *Aspergillus sp.*, *Bipolaris sp.*, *Bisifusarium dimerum*, *Botrytis cinerea*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium sp.*, *Clonostachys sp.*, *Colletotrichum sp.*, *Plyonectria destructans*, *Dinemasporium sp.*, *Fusarium chlamydosporium*, *Fusarium solani*, *Fusarium sp.*, *Marssonina sp.*, *Oidium sp.*, *Pestalotia sp.*, *Phoma sp.*, *Phomopsis sp.*, *Phomopsis obscurans*, *Phytophthora sp.*, *Pythium sp.*, *Ramularia sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Rhizopus sp.*, *Podosphaera mors-uvae*;

Б. степная

4. филиала ВИЛАРа (Краснодарский край) *Alternaria sp.*, *Colletotrichum sp.*, *Fusarium solani*, *Fusarium sp.*, *Heterosporium sp.*, *Monilia sp.*, *Penicillium sp.*, *Phoma sp.*, *Phytophthora sp.*, *Pythium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Sordaria sp.*, *Ulocladium sp.*, *Xylomyces sp.*

Заключение. Важным аспектом в современном производстве сырья ЛР являются данные об устойчивости растений к фитопатогенным микроорганизмам в границах растительно-микробных сообществ. Это позволяет разрабатывать эффективные биологические методы защиты растений от фитопатогенов.

Многолетними исследованиями установлено, что в коллекционных посадках ЛР поражение листовыми пятнистостями характеризуется средней степенью и равно 2-3 балла. В разные сезоны микозы ЛР проявляются реже в условиях лесной зоны, по сравнению со степной зоной. Это характеризует средний балл развития болезней в лес-

ной зоне меньше 2 и в степной зоне выше 3. Показатель распространения микозов существенно не различается ни по месту наблюдения, ни по сезону. Поэтому можно заключить, что именно наличие источника инфекционного начала листовых пятнистостей опасно для коллекционных ЛР.

Список литературы

1. Ларина Г.Е., Серая Л.Г., Голибмовская С.А. и др. Фитопатология (микозы) лекарственных растений в многолетних коллекционных посадках / В сб. «90 лет - от растения до лекарственного препарата: достижения и перспективы». Сборник материалов юбилейной международной научной конференции. Москва, 2021. С. 83-92.
2. Терехин А.А., Вандышев В.В. Технология возделывания лекарственных растений. М.: РУДН, 2008. 201 с.
3. Ларина Г.Е. Комплекс микромицетов хвойных пород в объектах озеленения и фунгиостазис почвы / В сб. «Мониторинг и биологические методы контроля вредителей и патогенов древесных растений: от теории к практике». Материалы Второй Всероссийской конференции с международным участием. М.: 2019. С. 105-106.
4. Куркин В.А. Лекарственные растения как источник импортозамещающих препаратов // Фундаментальные исследования. 2013. № 8-1. С. 139-142.
5. Алексеева А.В. Трава Melissa лекарственной перспективный источник импортозамещающих нейротропных препаратов // Медицинский альманах. 2011. №1. С. 233-237.

ОЦЕНКА ПРИМЕНИМОСТИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ПАСМО ЛЬНА MYCOSPHAERELLA LINICOLA NAUMOW (SEPTORIA LINICOLA (SPEG.) GARAS.)

А.Г. Щуковская¹, Ю.В. Цветкова^{1, 2}¹ФГБУ «ВНИИКР», Быково, Московская область
²МГУ им. М. В. Ломоносова

Российская Федерация, на протяжении последних 3-х лет, входит в тройку лидирующих мировых экспортёров семенного материала льна [1]. В 2020 объём экспорта составил свыше 1700 тыс. тонн [2]. В соответствии с фитосанитарными требованиями некоторых стран-импортеров российская семенная продукция льна должна быть свободна от грибных патогенов и в первую очередь - пасмо льна. Данное заболевание является одним из наиболее опасных и вредоносных инфекционных заболеваний культурных и дикорастущих видов льна.

Диагностика возбудителя пасмо льна классическими микологическими методами проводится с использованием влажных камер, питательных сред, а также с использованием метода смыва и центрифугирования. При высокой инфекционной нагрузке и наличии видимого спороношения на пораженных семенах вышеперечисленные методы позволяют выделить и идентифицировать целевой вид. Трудоемкость данного метода обусловлена сложным циклом развития гриба, включающего нехарактерные для пикнидиальных грибов типы спороношения. Для образования конидий, имеющих диагностические признаки и позволяющих идентифицировать целевой вид требуются определенные условия и длительный промежуток времени. Это связано с низким темпом роста и развития колонии *M. linicola*, которая легко подавляется другими быстрорастущими видами (*Alternaria spp.*, *Fusarium spp.* и др.) Применение молекулярных методов для идентификации *M. linicola* позволит усовершенствовать его диагностику, преимуществами которой является высокая достоверность и сокращение времени проведения исследований. Основная цель работы заключалась в определении возможности применения молекулярных методов диагностики для идентификации возбудителя пасмо льна, включая подбор методов подготовки проб.

Для разработки видоспецифичных праймеров был выбран ген фактора элонгации трансляции (EF1), как один из участков ДНК, обладающий полиморфизмом, достаточным для разделения видов в пределах рода *Septoria*. Подобранные и синтезированные праймеры Slina01_F и Slina02_R были протестированы методом классической ПЦР с последующей визуализацией результатов в агарозном гель-электрофорезе. При проведении исследований на специфичность с праймерами Slina01_F/Slina02_R не было получено перекрестных реакций с нецелевыми видами грибов р. *Septoria*, р. *Alternaria*, р. *Fusarium*. Порог чувствительности отработанной тест-системы составил 0,055 нг/мкл

На втором этапе работы были апробированы несколько методов выделения ДНК из искусственно инфицированных семян льна. Было протестировано четыре способа пробоподготовки: замачивание проб (одна проба - 200 семян льна) в экстрагирующем буфере с последующим механическим растиранием; механическое растирание семян в экстрагирующем буфере без предварительного замачивания; замачивание семян в экстрагирующем буфере с последующим шейкированием (30 мин, 100 об/мин); ручная гомогенизация семян жидким азотом. Дальнейшую работу

по выделению ДНК проводили с использованием коммерческих наборов: DNEASY Plant Mini Kit (Qiagen) и «Фито-Сорб» (ЗАО «Синтол»). Результаты проведенных исследований показали, что метод ручной гомогенизации семян льна жидким азотом более эффективен по сравнению с другими апробированными методами: положительные результаты (образование целевого ПЦР-продукта длиной 350 п.о.) были получены именно при использовании данного метода пробоподготовки и только в образцах, выделенных с помощью набора «Фито-Сорб» (ЗАО «Синтол»).

Следующий этап работы включал определение чувствительности данного метода. Для растирания образцов в жидком азоте были отобраны следующие варианты: 10 семян с видимым поражением (спороношение развито) + 190 здоровых семян (1); 10 семян без видимого поражения (спороношение не развито) + 190 здоровых семян (2); 1 семя с видимым поражением + 199 здоровых семян (3); 1 семя без видимого поражения + 199 здоровых семян (4); 10 семян льна с видимым поражением (5); 10 семян льна без видимого поражения (6). В качестве отрицательного контроля использовали здоровые, неинфицированные семена (200 семян), в качестве положительного контроля использовали мицелий из чистой культуры *M. linicola*.

Положительные образцы (ПО) были выявлены в варианте 1 с добавлением 10 зараженных семян с видимым поражением, смешанных с 190 здоровыми семенами, в двух проворностях из шести. В вариантах 5 и 6 с добавлением 10 семян с видимым спороношением и 10 без видимого спороношения выявление ПО было во всех проворностях. В остальных образцах ПЦР – продукт отсутствовал. Система внутренних контролей показала, что большинство ложноотрицательных результатов связано с ингибированием ПЦР-реакций, что свою очередь, может быть связано с высоким содержанием жирных кислот и других ингибиторов в составе семян льна. В варианте 2 с добавлением 10 семян без видимого поражения + 190 семян здоровых система внутреннего контроля сработала в 33% случаев, однако, целевой продукт отсутствовал, что может быть связано с малой концентрацией ДНК патогена.

Таким образом, по результатам оценки применимости выбранных методов проведение диагностики возбудителя пасмо льна возможно с использованием чистой культуры патогена или видимого мицелия на растении хозяине. Дальнейшая оптимизация по работе с выделением ДНК патогена напрямую из растительных образцов сложного химического состава будет направлена на очистку выделенной ДНК от ингибиторов с использованием других методов выделения нуклеиновых кислот.

Список литературы

1. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://trendeconomy.ru>
2. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://stat.customs.ru>

ОЛИВКОВАЯ ПЛЕСЕНЬ КОЛОСЬЕВ И «ЧЁРНЫЙ ЗАРОДЫШ СЕМЯН» ПШЕНИЦЫ

А.Г.Шеримбетов, Б.А. Хасанов

Институт генетики и экспериментальной биологии растений Академии наук Республики Узбекистан, Ташкентская область, Республика Узбекистан

Колосья, а также стебли, зёрна и стареющие листья пшеницы и других зерновых культур нередко поражаются оливковой плесенью, симптомы которой проявляются в виде тёмно-зелёного, бурого, серого, серовато-зелёного или оливково-чёрного, бархатистого, плотного, в сухую погоду порошащего налёта, который придаёт колосьям грязный вид.

Сведения о болезнях пшеницы в Ферганской долине практически отсутствуют. Целью данных исследований было предварительное изучение наличия и распространённости болезней колосьев и зёрен пшениц в трёх районах Андижанской области.

Колосья пшеницы 4-х сортов для анализа собирали 3.07. 2021 г. в хозяйствах трёх районов, расположенных в центре (Алтынкульский), в западной (Улутнорский) и юго-восточной (Ходжабадский р-н) частях Андижанской области. Далее 10.07.2021 г. визуально определяли наличие на них оливковой плесени. Обнаруженные на колосьях налёты плесени микроскопировали для установления гриба – возбудителя болезни.

После тщательного высушивания колосьев в течение 30 дней зёрна с них обмолачивали, и определяли их заражённость чёрным зародышем семян. Болезнь учитывали по модифицированной авторами 5-балльной шкале: 0 – семя здоровое; балл 0,1 – пятна светло-бурые до бурых, покрытая пятнами площадь поверхности семян >1%; балл 1 – пятна тёмно-бурые до чёрных, покрытая пятнами площадь поверхности семян 1-5%; балл 2 – пятна чёрные, покрытая пятнами площадь поверхности семян 6-25% и балл 3 – пятна чёрные, покрытая пятнами площадь поверхности семян >25%.

При микологическом анализе семян с чёрным зародышем их промывали в течение 2-х часов под текущей водопроводной водой, поверхностно обеззараживали 0,5-0,7%-ным раствором гипохлорита натрия и 70%-ным этанолом, 2-3 раза ополаскивали стерильной дистиллированной водой, высушивали между полосками стерильной фильтровальной бумаги и высевали по 5-8 штук на поверхность голодного агара. Предварительно в тёплую среду перед разливом вносили 1 г/л стрептомицина сульфата или смесь пенициллина и стрептомицина (0,5 + 0,5 г/л) для предотвращения роста бактерий. Высевные чашки Петри выдерживали при комнатной температуре и через 3-5 дней инкубации микроскопировали [5, 6, 7]. Идентификацию выросших грибов проводили сравнением их признаков с таковыми, приведёнными в соответствующих определителях [7, 8].

Проведённые учёты показали, что встречаемость оливковой плесени в разных по географическому расположению районах области одинакова и составляет 13,3-20,0%, в

среднем 15,0%. При микроскопии налётов с поражённых оливковой плесенью колосьев и семян с них на всех препаратах постоянно регистрировали конидии гриба, форма, окраска и размеры которых были идентичны с таковыми гриба *Cladosporium herbarum*. Другие грибы (виды родов *Alternaria*, *Aspergillus* и *Fusarium*) на больших колосьях встречались очень редко и в единичных случаях.

Обследование зёрен из собранных в различных хозяйствах трёх районов Андижанской области колосьев пшеницы показало наличие чёрного зародыша в 8,8% из общего количества обследованных 8035 семян. Доля слабо поражённых семян (баллы 0,1 и 1) составила в среднем 2,2% и 5,1%, соответственно. Анализ данных таблицы также показывает, что, в целом больные чёрным зародышем семена пшеницы чаще встречались в образцах обоих сортов (Краснодар-99, Лебедь), собранных в Ходжабадском районе, чем в остальных двух районах. Поражённые чёрным зародышем в сильной степени (баллы 2 и 3, соответственно) семена регистрировались, в основном, преимущественно также в образцах семян из Ходжабадского района.

Результаты микологического анализа поражённых чёрным зародышем семян пшеницы приведены в таблице 3. Из таблицы видно, что возбудителями этого заболевания в условиях Андижанской области оказались те же виды грибов, которые вызывают чёрный зародыш семян пшеницы и других зерновых культур и в других странах мира, а именно виды рода *Alternaria* и *Bipolaris*. Приведённые данные свидетельствуют о том, что среди обнаруженных патогенных грибов доминируют виды рода *Alternaria*, которые выделены из 57 (79,2%) из высевных 72 больных семян. Встречаемость признанных патогенов зерновых культур *B.sorokiniana* и *Fusarium spp.* была низкой (по 2,78%), однако нахождение их в Андижанской области само по себе заслуживает большого внимания.

В Узбекистане чёрный зародыш семян пшеницы раньше (в 2013 г.) обнаружили в 5 районах Ташкентской области, на 11 из 13 образцов семян, и во всех случаях болезнь была вызвана только видами рода *Alternaria*.

Bipolaris sorokiniana является возбудителем так называемого «гельминтоспориоза» зерновых культур и других злаков. Он указан в качестве одного из основных возбудителей корневой гнили пшеницы на богаре в Узбекистане, на поливе в Киргизии и главного возбудителя чёрного зародыша семян пшеницы в Казахстане и других странах мира [3]. Этот грибок в Узбекистане очень сильно поражает также ячмень.

Таблица
Результаты микологического анализа образцов семян пшеницы, поражённых чёрным зародышем семян

Номер образца	Количество * высеянных больных семян, шт.	Виды и количество (в скобках, шт.) грибов, выросших из больных чёрным зародышем семян пшеницы
1	13	<i>Alternaria</i> spp. (10), <i>Cladosporium</i> sp. (1), <i>Mucor</i> sp. (1), неидентифицированные (3)
2	14	<i>Alternaria</i> spp. (10), <i>Fusarium</i> sp. (1), <i>Bipolaris spicifera</i> (1), <i>Trichoderma</i> sp. (1), неидентифицированные (3)
3	10	<i>Alternaria</i> spp. (8), <i>Fusarium</i> sp. (1), <i>Bipolaris sorokiniana</i> (1)
4	15	<i>Alternaria</i> spp. (11), <i>Bipolaris sorokiniana</i> (1), <i>Bipolaris</i> sp. (1), <i>Cladosporium</i> sp. (1), неидентифицированные (1)
5	10	<i>Alternaria</i> spp. (10)
6	10	<i>Alternaria</i> spp. (8), неидентифицированные (4)
Всего	72	<i>Alternaria</i> spp. (57) <i>Bipolaris spicifera</i> (1) <i>Bipolaris sorokiniana</i> (2) <i>Bipolaris</i> sp. (1) <i>Cladosporium</i> sp. (2), <i>Fusarium</i> sp. (2) <i>Mucor</i> sp. (1) <i>Trichoderma</i> sp. (1) Неидентифицированные (11)

Примечание. * - Количество чернозародышевых семян пшеницы, высеянных в двух чашках Петри.

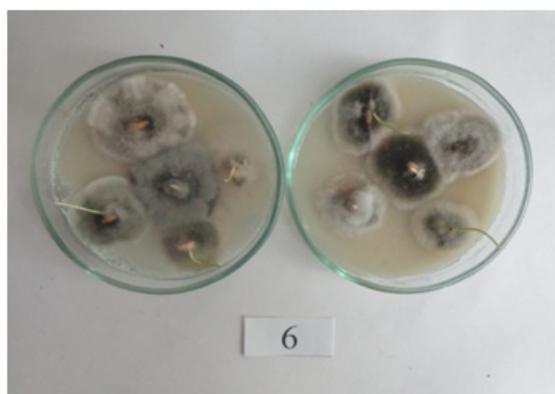


Рис.1. Результаты микологического анализа образцов семян пшеницы

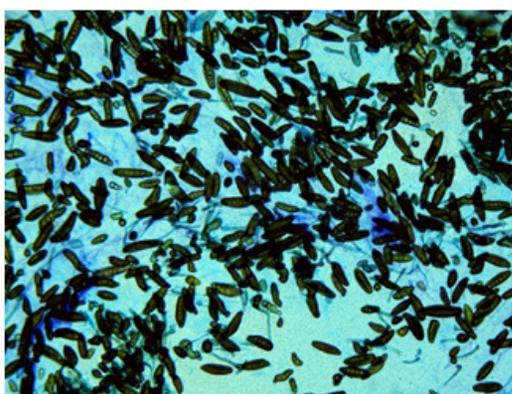


Рис.2. Конидии гриба *Bipolaris sorokiniana* (100^x)

Растения пшеницы и ячменя восприимчивы к *B. sorokiniana* на всех стадиях роста и развития. У всходов он поражает корни, coleoptиле, гипокотиль, нижние листья, вызывая изреживание посевов. На более поздних стадиях роста происходит побурение узла кущения, первого надземного и подземного междоузлия, уменьшается количество стеблей. На листьях появляются тёмно-бурые пятна, растения отстают в росте, наблюдается белоколосость, белостебельность, снижение общей продуктивности стеблестоя. Даже при слабом заражении происходит существенное уменьшение всех параметров роста растений и величины урожая: высоты растений, размера колоса, количества зёрен в колосе, массы зёрен в одном колосе, массы 1000 семян. Сильно поражённые семена становятся чёрнозародышевыми, у них снижаются товарные и посевные качества.

Что касается видов рода *Fusarium*, то степень их патогенности, агрессивности и вредоносности в качестве возбудителей корневой гнили пшеницы значительно выше, чем таковая видов родов *Bipolaris* и *Alternaria*.

Приведённые сведения являются новыми для условий Андижанской области, и видовой состав возбудителей чёрного зародыша семян (и оливковой плесени колосьев) пшеницы в этом регионе определён впервые. Поражение семян пшеницы грибами *Bipolaris sorokiniana*, *B. spicifera*, *Bipolaris sp.* и *Fusarium sp.* впервые установлено не только для Андижанской области, но в целом и для Узбекистана.

Чистые культуры выделенных из больных чёрным зародышем семян грибов *Fusarium sp.*, *Bipolaris sorokiniana*, *B. spicifera* и *Bipolaris sp.* хранятся в Коллекции фитопатогенных микроорганизмов («Уникальном объекте») Института генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз.

ФОМОИДНЫЕ ГРИБЫ КАРТОФЕЛЯ: РАЗНООБРАЗИЕ, ПАТОГЕННОСТЬ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ФУНГИЦИДАМ

Скоков Д.А.¹, Цинделиани А.А.¹, Еланский С.Н.^{1,2}, Чудинова Е.М.¹

¹Российский Университет Дружбы Народов, Москва

²Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова

Введение

К фомоидным грибам принято относить анаморфные аскомицеты, способные формировать пикниды с разнообразными конидиями. Под такое определение подходит более 1000 нестроматических пикнидиальных грибов [1]. В настоящее время для определения филлогенетических связей и видовой принадлежности применяют молекулярные методы. Для картофеля наиболее типичны *Boeremia foveata*, *Boeremia exigua*, *Juxtiphoma euryrena* – возбудители фомоза (гангрены, пуговичной гнили) клубней картофеля [2,3]. Эти грибы вызывают на клубнях картофеля появление вдавленного темного пятна; на разрезе видна четкая граница между больной и здоровой тканью. Внутреннее поражение картофеля при фомозе может быть значительно обширнее, чем пятно снаружи. Со временем на пораженном участке картофеля образуются пикниды. Самым агрессивным считается вид *B. foveata*. На карте сайта САБИ эти виды в России не отмечены, по-видимому, это связано с отсутствием данных о распространении фомоидных грибов картофеля в России. В представленной работе проведено изучение видовой принадлежности штаммов фомоидных

Список литературы

1. Гулмуродов Р.А. Бутдойнинг майса, илдиз, поя чиришлари, коракуя, ун-шудринг касалликлари ва уларга карши кураш чоралари. Монография. Тошкент: ТошДАУ, 2016, 160 бет.
2. Fernandez M.R. Black point (smudge). Pages 20-22 in: Bockus W.W., Bowden R.L., Hunger R.M., Morrill W.L., Murray T.D., Smiley R.W. (eds.). Compendium of wheat diseases and pests. Third edition. USA, APS, Minn., 2010, viii + 171 pp.
3. Азбукина З.М., Барбаянова Т.А., Лукьянчикова В.П., Зайцева А.В. Возбудители грибных болезней зерновых культур. Стр. 84-224 в кн.: «Возбудители болезней с.х. растений Дальнего Востока». М.: «Наука», 1980.
4. Чулкина В.А. Влияние «чёрного зародыша» на посевные качества семян в Горном Алтае. Микология и фитопатология, 1970, т. 4, № 5, с. 435-440.
5. Кирай З., Клемент З., Шоймоши Ф., Вереш Й. Методы фитопатологии. Пер. с англ. М.: «Колос», 1974, 343 с.
6. Хасанов Б.А., 1992-а. Определитель грибов – возбудителей «гельминтоспориозов» растений из родов *Bipolaris*, *Drechslera* и *Exserohilum*. Ташкент: «Фан», 1992, 244 с.
7. Хасанов Б.А., 1992-б. Несовершенные грибы как возбудители основных заболеваний злаков в Средней Азии и Казахстане. Дис. насоиск. уч. ст. д.б.н. М.: МГУ, 1992, 410 с.
8. Пидопличко Н.М. Грибы-паразиты культурных растений. Определитель. Том 2. Грибы несовершенные. Киев: «Наукова Думка», 1977, 299 с.

грибов, выделенных из клубней картофеля, выращенных в России, определение их патогенности и устойчивости к фунгицидам. Также был изучен 1 штамм из Уганды.

Материалы и методы

Для работы отбирали клубни с характерными признаками фомоза. С пораженных клубней в чистую культуру было выделено 13 штаммов грибов из Магаданской, Калужской, Архангельской, Московской областей и из Уганды

Методика определения. Определение проводили на основании анализа последовательности маркерных генов. Для выделения ДНК мицелий наращивали в жидкой гороховой среде в течение недели, затем мицелий помещали на бумажные фильтры и подсушивали. Далее мицелий переносили в ступку, добавляли корунд и 700 мкл СТАВ (лизирующий буфер) и тщательно растирали. 1 мл растертого в буфере мицелия переносили в микропробирку и перемешивали на вортексе. Затем инкубировали в термостате в течение 1 часа при 65°C. Далее добавляли 500 мкл хлороформа и центрифугировали 10 мин. 700 мкл верхней части супернатанта переносили в новую пробирку. Добавляли

400 мкл изопропанола и 70 мкл СНЗСООК (1/10 объема, 5М, Ph=4,6), перемешивали руками и центрифугировали 10 мин. Супернатант сливали, осадок промывали 70% этанолом (150 мкл). Центрифугировали 5 мин, спирт сливали, осадок удаляли фильтровальной бумагой. Промывали 2 раза. Далее осадок высушивали и ресуспендировали в 50 мкл деионизированной воды.

Для ПЦР смешивали 18,5 мкл воды, 2,5 мкл 10x буфера, 0,5 мкл dNTP (по 10мкМ каждого), по 0,5 мкл 100 мкМ праймеров ITS 5 и ITS 4, 0,5 мкл TAQ-полимеразы (3,5 ед/мкл) и 2 мкл раствора ДНК. Праймеры и режим ПЦР были таким же как в статье [4].

Полученный ПЦР-продукт очищали в агарозном геле. Для этого готовили гель для электрофореза (99 мл TBE буфера, 1 г агарозы, 15 мкл бромистого этидия), гель помещали в камеру для электрофореза. В лунки геля помещали ПЦР-продукты, смешанные с 2 мкл Gel Loading Dye, Blue. Проводили электрофорез в течение 30-40 минут. Далее из агарозного геля, помещенного на столик трансиллюминатора, вырезали ПЦР-продукты, подсвеченные УФ излучением. Дальнейшие действия проводили согласно инструкции набора для очистки ПЦР-продукта из геля (Евроген, CleanupStandard). Очищенную ДНК передавали в Евроген для секвенирования.

Тестирование вирулентности: кусочки агара с мицелием помещали на 2 ломтика картофеля (один кусок был защищен кожурой клубня, второй нет) и помещали во влажную камеру на 2 недели. Опыт проводили в 2 повторностях. По истечении срока проводили измерение пораженного участка при помощи линейки. При незначительном поражении оценивали способность гриба переходить с мицелия на картофель под бинокулярном (МБС 10, Россия).

Тестирование устойчивости к фунгицидам

Тестирование проводили на картофельно-глюкозном агаре с добавлением препарата Имикар, КС в концентрациях (по действующему веществу – тиабендазолу) 1, 10, 100 мг/л., Кагатник КС в концентрациях (по бензойной кислоте) 10, 100, 1000 мг/л, Максим в концентрации (по флудиоксонилю) 1, 10, 100 мг/мл. В качестве контроля использовали среду без фунгицида. Культивировали при температуре 25°C в течение 7 дней. Измеряли два взаимно перпендикулярных диаметра, значения усредняли. Все измерения проводили в 3 повторностях, результаты которых также усредняли. Для каждого штамма путём математической обработки определяли показатель ЕС50 (концентрация фунгицида, необходимая для замедления скорости радиального прироста колонии на 50 % относительно бесфунгицидного контроля).

Результаты и обсуждение

Из 13 проанализированных по последовательностям ядерных рибосомных генов (ITS1-5,8S-ITS2, фрагмент 28S рРНК) фомоидных грибов 9 относятся к виду *Juxtiphoma eupyrena* (Sacc.) Valenz.-Lopez, Crous, Stchigel, Guarro & Cano (= *Phoma eupyrena*), 1 штамм к *Remotididymella destructiva* (Plowr.) Valenz.-Lopez, Cano, Crous, Guarro & Stchigel (= *Phoma destructiva*), 2 штамма *Didymella glomerata* (Corda) Qian Chen & L. Cai (= *Phoma glomerata*), 1 штамм *Pyrenochaeta sp. R. destructiva* был найден на клубне картофеля из Уганды. Этот гриб известен как патоген томата [5], соответствующие ему участки ДНК были нами найдены на листьях дикорастущего *Solanum dulcamara* в Москве [6]. Имеются сведения о находках *R. destructiva* на листьях картофеля; сведения о его находках на клубнях нам обнаружить не удалось. Как показали наши опыты *R. destructiva* может поражать клубни картофеля в незначительной степени. Под бинокулярном

хорошо заметно, что гифы гриба перешли на ткань клубня, под гифами образовалось углубление ткани темного цвета. Однако размер поражения не превышал 1,5 мм от края агарового блока.

Штаммы *J. eupyrena* из клубней картофеля Московской, Магаданской, Архангельской областей России были способны вызывать незначительное поражение на клубне картофеля (1,5-3 мм от блока с агаром). Через кожуру грибы картофель не поражали. В качестве отрицательного контроля был выбран фомоидный гриб *Neocamarosporium betae*, поражающий свеклу. Этот гриб не поражал ломтик картофеля, мицелий не мог сойти с кусочка агара, через две недели мицелий полностью засох. Штамм *Pyrenochaeta sp.* слабо поражал ломтики клубня картофеля (2,5 мм от блока с агаром). Штаммы *D. glomerata* обладали разной степенью патогенности. Штамм из Калужской области был слабо патогенен (1мм от блока агара), штамм из Московской области (3,5 мм от блока агара). Ранее патогенных штаммов *D. glomerata* для картофеля не было обнаружено.

Была проверена чувствительность фомоидных грибов к тиабендазолу, флудиоксонилю и бензойной кислоте. Все проверенные штаммы оказались чувствительны к тиабендазолу (ЕС50 4,5-8,2 мг/л). Повышенной устойчивостью к тиабендазолу обладал выделенный из свеклы штамм *Neocamarosporium betae* (ЕС50 75,6 мг/л). К флудиоксонилю штаммы были восприимчивы (ЕС50 от 0,06 до 25,7 мг/л). К бензойной кислоте штаммы были более устойчивы (ЕС50 от 285-632 мг/л). Однако исследованные дозы фунгицидов, угнетающих рост колоний грибов, существенно ниже рекомендованных для использования в рабочей жидкости. Поэтому тиабендазол, флудиоксонил и бензойную кислоту можно считать эффективными препаратами в отношении фомоидных грибов, поражающих картофель.

Таким образом, в настоящей работе впервые проведен генетический анализ штаммов фомоидных грибов, выделенных из клубней в разных регионах России. В России были выделены 3 вида: *Didymella glomerata*, *Juxtiphoma eupyrena*, *Pyrenochaeta sp.*; из клубня, выращенного в Уганде – *Remotididymella destructiva*. Штаммы видов *Voeremia foveata* и *V. exigua*, отмечаемые в литературе как основные возбудители фомоза, не были обнаружены.

Исследование выполнено при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 20-016-00139).

Список литературы

1. Гомжина М. М., Ганнибал Ф. Б. Современная систематика грибов рода *Phoma sensu lato* // Микология и фитопатология. Т. 51. В. 5. 2017. С. 268-275
2. A'Hara D. Detection and Identification of *Phoma* Pathogens of Potato. *Plant Pathology: Techniques and Protocols, Methods in Molecular Biology*, vol. 1302, Christophe Lacomme (ed.) DOI 10.1007/978-1-4939-2620-6_2, © Springer Science+Business Media New York, 2015
3. de Gruyter J., van Gent-Pelzer M.P.E., Woudenberg J.H.C. et al. The development of a validated real-time (TaqMan) PCR for detection of *Stagonosporopsis andigena* and *S. crystalliniformis* in infected leaves of potato and tomato. // *Eur J Plant Pathol.* 2012. 134. P. 301–313. <https://doi.org/10.1007/s10658-012-9990-8>
4. White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and directsequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: a guide to methods and applications.* (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). Academic Press, New York, USA 1990: 315–322.

5. Colmán A.A., Alves J.L., da Silva M. et al. Phoma destructiva causing blight of tomato plants: a new fungal threat for tomato plantations in Brazil? // Trop. plant pathol. 2018. 43. P. 257–262. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0200-2>
6. Kokaeva L.Yu., Berezov Yu.I., Zhevora S.V., Balabko P.N., Chudinova E.M., Voronina E.Yu., Elansky S.N. Studies on the mycobiota of blighted *Solanum dulcamara* leaves // Микология и фитопатология. 2019. 53(2). С. 108–114.

ТИРОСТРОМОЗ – ОПАСНЕЙШЕЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ ЛИПЫВ УСЛОВИЯХ МОСКВЫ

Смирнов А. Н., Смирнова О. Г.

РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, Москва

Виды рода липа (*Tilia*) активно использовали в озеленении Москвы и других мегаполисов. Сохраняются насаждения советского периода. Нередко в советской практике озеленения липы заменялись на тополя. Об этом рассказывают возрастные москвичи. В настоящее время декоративные формы липы активно завозятся из зарубежных питомников (Германия, Голландия, Польша). Они начинают создавать аспект в озеленении города.

Грибы рода *Thyrostroma compactum* Sacc. (*Stigmina compacta* (Sacc) M. B. Ellis) известны в микологии и лесной фитопатологии достаточно давно. Они вызывают инфекционное увядание липы и других пород (вяз, режа ясень и клен) [1, 2]. Практики до сих пор используют тиростромоз как название заболевания данных древесных пород.

До середины 1970-ых годов данное заболевание на территории СССР не отмечали в принципиальных сводках [3, 4]. К середине 1970-ых годов тиростромоз выявили на

территории Литвы, через несколько лет – в Московском регионе и в других регионах России (Самарская и Тульская области, Санкт-Петербург). Болезнь стала усугубляться и к 2000-ым годам достигать в Московском регионе до 90% [1].

Цель настоящего исследования – оценить тиростромоз липы в некоторых ее насаждениях советского периода и современности, с учетом методологии [5, 6], разрабатываемой нами в секторе фитопатологии кафедры защиты растений РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева

Материалы и методы. В 2021 и 2022 гг. исследовали насаждения липы советских посадок (Лесная опытная дача (ЛОД) РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, Лосиный остров и городской округ Мытищи Московской области) и лип из крупномерных современных посадок (Тверская улица, Цветной бульвар, у станции метро Спортивная) (табл. 1).

Таблица 1. Характеристики исследуемых лип

Локация	Число исследованных деревьев	Примерный возраст деревьев
Москва, ЛОД РГАУ-МСХА	30	40-60
Москва, Лосиный остров	60	40-50
Московская область, городской округ Мытищи	10	40-45
Москва, Тверская ул.	20	5-7
Москва, Цветной бульвар	50	20-25
Москва, м. Спортивная	30	2-3

Оценивали декоративность и жизнеспособность (категории состояния) исследуемых деревьев. Определяли характерные симптомы тиростромоза (усыхание почек и годичных приростов, некротизация, потемнение и растрескивание коры), раны, язвы на стволе и скелетных ветвях. Также определяли симптомы СУЛДР (сопряженного увядания листвы древесных растений) на ветвях с почками [7]. Под микроскопом при увеличении $\times 400$ определяли количество конидий *Th. compactum* на квадратный миллиметр пораженной поверхности.

Результаты. В советских посадках существенных ограничений декоративности и жизнеспособности лип не наблюдали. Большинство деревьев были без признаков ослабления или ограниченно ослабленные, с ограниченными проявлениями симптомов СУЛДР (сопряженного увядания листвы древесных растений) на ветвях с почками.

На Тверской улице в 2021 г. значительных нарушений декоративности и жизнеспособности лип не наблюдали. Однако к 2022 г. декоративность лип снизилась на 30-

50%, наблюдались значительные проявления СУЛДР и на отдельных экземплярах – тиростромоза.

На Цветном бульваре в 2021 г. наблюдали ограниченные снижения жизнеспособности, локальные проявления СУЛДР. Декоративность лип сохранялась на высоком уровне. К 2022 г. декоративность 30% обследованных деревьев снизилась на 5-20%. На всех деревьях наблюдали признаки СУЛДР в большей или меньшей степени.

В окрестностях м. Спортивная на территории современных жилых комплексов в 2022 г. наблюдали тотальное проявление симптомов тиростромоза на липах в виде крупномерных посадок и декоративной живой изгороди. Развитие заболевания составляло на них 10 и 20% соответственно, при этом декоративность на момент обследования сохранялась на высоком уровне, СУЛДР практически не выявлялось

Во всех точках наблюдений в Москве наблюдали значительную рекреационную и антропогенную нагрузку

Таблица 2. Встречаемости конидий *Th. compactum* в насаждениях липы, высаженных в Москве в разные годы

Локация	Встречаемость конидий <i>Th. compactum</i>	Встречаемость конидий других грибов
Москва, ЛОД РГАУ-МСХА	<1	3-5
Москва, Лосиный остров	<1	1-3
Московская область, городской округ Мытищи	-	1-3
Москва, Тверская ул.	1	4-5
Москва, Цветной бульвар	3-7	5-10
Москва, м. Спортивная, крупномерные посадки	5-25	2-3
Москва, м. Спортивная, декоративная изгородь	100-150	<1

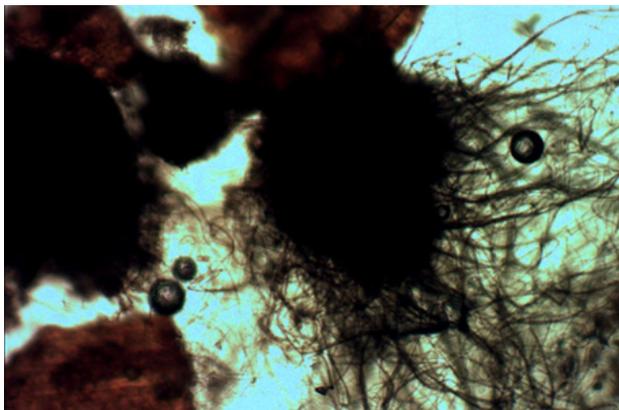
на насаждения липы, ведущую к загрязнению воздуха и почвы.

Исследования по встречаемости конидий *Th. compactum* в насаждениях липы в 2022 г. представлены в табл. 2.

Полученные данные показали, что интенсивность образования конидий была значительно выше в посадках липы, сделанных в 2000-2010-ые годы, по сравнению с предшествующими посадками липы, сделанными в советский период. В первых нередко наблюдали спороношения в виде подушечек (рис. 1) и многочисленные скопления ко-

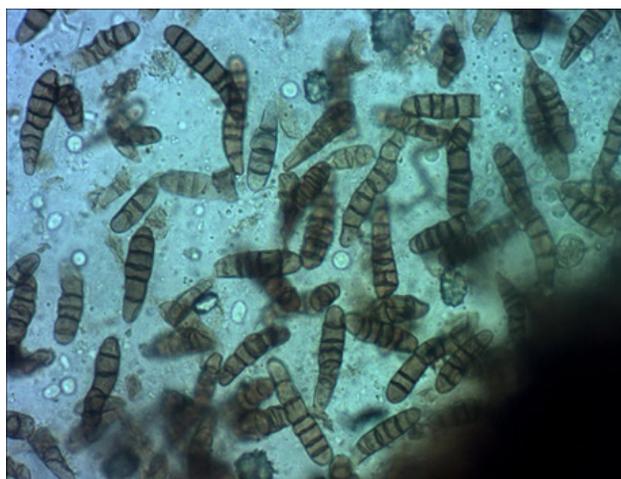
нидий. Они достигали максимального количества в декоративных изгородях липы (рис. 2). Также выявлен интересный факт, что при сильном поражении тиростромозом (декоративные изгороди липы) конидии *Th. compactum* находились в массе и почти без примесей конидий других грибов (табл. 2, рис. 2). Но при умеренном поражении тиростромозом конидии возбудителя находились в смеси с конидиями других фитопатогенных грибов – преимущественно родов *Cladosporium*, *Alternaria* и др. Данные грибы активно вызывали симптомы СУЛДР (табл. 2, рис. 3).

Рис. 1. Окрестности метро Спортивная. Бархатистая подушечка – общий вид спороношения с мицелием *Th. compactum* на пораженном тиростромозом боковом побеге.

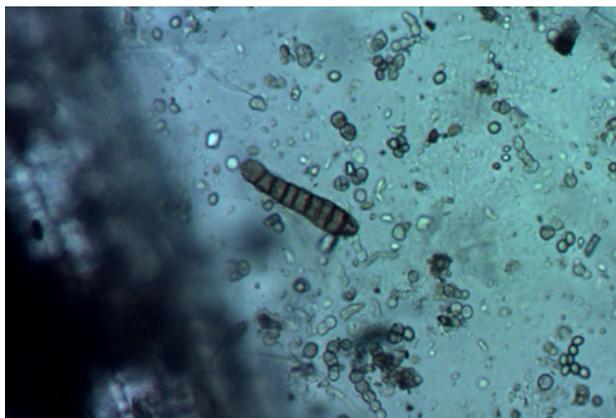


30 μm

Рис. 2. Окрестности метро Спортивная. Скопление конидий *Th. compactum* на пораженном тиростромозом боковом побеге.



10 μm

Рис. 3. Цветной бульвар. Единичная конидия *Th. compactum* в смеси с конидиями грибов рода *Cladosporium*.

10 μm

Обсуждение результатов. Прежде всего, обращают на себя внимание различия, полученные между насаждениями липы советского периода и последних двадцати лет, на основе импортируемого посадочного материала.

Насаждения липы советского периода минимально поражались тиростромозом, затрагивали деревья разных категорий. Ограниченное ослабление декоративности отдельных деревьев в виде симптомов СУЛДР могло быть связано в том числе и с развитием тиростромоза. Это в принципе согласуется с выводами предшествующего исследования в условиях Москвы [8]. Возможно также, в естественных лесах тиростромоз убирает часть подроста липы [1], способствуя регуляции лесных фитоценозов. Низкое поражение тиростромозом данных лип объясняется их высоким адаптивным потенциалом в аборигенных условиях, а также возможностью постепенного приспособления к ухудшающимся урбоэкологическим условиям центра г. Москва.

Насаждения липы последних двадцати лет значительно поражались тиростромозом. На это указывает как симптоматика (уровень развития тиростромоза), так и интенсивность образования конидий возбудителя. Оба показателя достигают высоких значений. Изначально высокую декоративность импортируемых лип зачастую удается поддерживать путем масштабного применения регуляторов роста и препаратов на основе микоризообразователей. Однако жизнеспособность в условиях другого климата и значительной урбанизации в центре Москвы заметно падает. Защитные реакции перестают срабатывать и импортируемые липы массово поражаются тиростромозом.

Есть данные, что к началу 2000-ых годов липы меньше поражались тиростромозом, а возбудитель образовывал меньше конидий в условиях Москвы данного периода. Однако, вероятно к началу 2020-ых годов ситуация поменялась. Есть основания полагать, что в условиях Москвы возбудитель смог приспособиться к настоящему уровню урбанизации при том, что жизнеспособность импортируемых лип оказалась в данных условиях низкой.

Источников инфекции тиростромоза лип в настоящее время возможно два. Первый источник инфекции – импортируемый посадочный материал, в котором возбудитель может находиться в латентном состоянии. В условиях Москвы тиростромоз может проявляться как постепенно, до 15 лет (насаждения Цветного бульвара начала 2000-ых годов), так и за 1-2 года (насаждения конца 2010-ых годов на Тверской улице и окрестностях метро Спортивная). Второй источник инфекции – почва и растительные остатки [9]. С ними входит в контакт ослабляемый в условиях урбанизации и непривычного климата посадочный материал,

и поэтому он достаточно легко поражается тиростромозом. Этот источник может быть актуален, так как в импортируемом посадочном материале липы пропагулы *Th. compactum* удается идентифицировать не всегда.

Так как инфекционная нагрузка возбудителя тиростромоза достигает критических величин, есть основания полагать, что современные поражаемые тиростромозом посадки липы могут быть масштабным источником инфекции для еще непораженных посадок липы по принципу «мостиков» [10]. Более того, возможно, могут поражаться и другие породы деревьев. Так, нами обнаружены единичные конидии данного возбудителя на сосне и каштане ложноконском. Наконец, требует прояснения и санитарная ситуация. Возможно, что конидии патогена с такой интенсивностью образования способны оказывать негативное воздействие на здоровье человека, особенно для детей, пожилых людей и лиц с хроническими заболеваниями.

Закключение. Проведенное исследование требует многоэтапной проверки посадочного материала лип, импортируемых в Россию. Так как, исходя из требований и специфики современного ландшафтного дизайна, от посадок декоративных лип отказаться невозможно, целесообразно усилить работу по их адаптации в условиях Москвы путем создания специализированных питомников, где перед посадкой крупномерный посадочный материал лип будут адаптировать и проверять в течение не менее 2 лет.

Список литературы

1. Семенкова И. Г., Соколова Э. С. Фитопатология. М:Издательский центр «Академия», 2003. 480 с.
2. Воробьева М. В. Фитопатология. Некрозные, сосудистые и раковые болезни древесных растений. Екатеринбург:Электронный архив УГЛТУ, 2018. 26 с.
3. Черемисинов Н. А., Негруцкий С. Ф., Лешковцева И. И. Грибы и грибные болезни деревьев и кустарников. М: «Лесная промышленность», 1970. 391 с.
4. Журавлев И. И., Крангауз Р. А., Яковлев В. Г. Болезни лесных деревьев и кустарников. М: «Лесная промышленность», 1974. 160 с.
5. Смирнов А. Н., Кузнецов С. А. Определение стратегий размножения и жизнеспособности полевых популяций *Phytophthora infestans* // Защита и карантин растений. – 2006. – № 9. – С. 30-31.
6. Смирнов А. Н., Приходько Е. С., Васильченко В. В., Хохлов В. П., Сухоруков А. А., Кузнецов С. А. Прикладное значение определения репродуктивного потенциала и агрессивности грибных и псевдогрибных патогенов

- картофеля и томата // Картофель и овощи. -2019. - № 6. – С. 18-25.
7. Смирнова О. Г., Смирнов А. Н. Микозы как причина сопряженного увядания листвы древесных растений (СУЛДР) в условиях г. Москва // Успехи медицинской микологии. – 2019. – Т. 20. – С.600-606.
 8. Соколова Э. С., Мозолевская Е. Г., Галасьева Т. В. Инфекционные болезни деревьев и кустарников в насаждениях Москвы. М:Издательство Московского государственного университета леса, 2009. 130 с.
 9. Смирнов А. Н., Смирнова О. Г., Горбаневский А. М., Зайцев Д. В., Чебаненко С. И. Сравнение родового состава возбудителей микозов, ослабленных древостоев, почв под ослабленными древостоями, завезенных грунтов и урбосферы Москвы // Успехи медицинской микологии. – 2019. – Т. 20. – С.581-585.
 10. Смирнов А. Н., Кузнецов С. А., Смирнова О. Г. Развитие эпифитотий на близкородственных видах растений-хозяев // Доклады ТСХА. – 2010. – Вып. 282. – С. 292-305.

НОВЫЙ ВИД ГРИБА *FUSARIUM COFFEATUM* – ПЕРВОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Стахеев А.А.¹, Минаева Л.П.², Самохвалова Л.В.¹, Завриев С.К.¹, Киселева М.Г.²

¹ ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
² ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва

Грибы рода *Fusarium* на протяжении более 200 лет притягивают внимание широкого круга ученых во всем мире. Это связано с их значительной ролью в сельскохозяйственном секторе и воздействием на здоровье человека, обусловленное наличием фитопатогенных и токсигенных видов; с эволюцией таксономических систем, претерпевавших существенные изменения в подходах при описании фенотипов *Fusarium sp.*, основанных на морфологических характеристиках. Развитие методов молекулярной биологии привело к появлению молекулярной филогенетики, в результате чего сложившаяся и общепризнанная таксономия *Fusarium* получила новое развитие. Совершенствование методов химического анализа, главным образом на основе ВЭХЖ-МС/МС, позволило получать знания о спектре продуцируемых вторичных метаболитов *Fusarium sp.*, в том числе микотоксинов, что легло в основу хемотаксономической систематики. Надежные данные идентификации изолятов *Fusarium sp.* могут быть получены только при использовании комплексного подхода на основе полифазной таксономии, включая изучение фенотипических, молекулярно-генетических и хемотаксономических характеристик микромицетов.

В ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» в 2014 г. был выделен моноспоровый изолят *Fusarium sp.*, с рабочим названием штамм ION-3/4 (пшеница, Тульская обл.). Предварительный анализ морфологических особенностей культуры не позволил однозначно определить его видовую принадлежность. Для установления видового статуса штамма ION-3/4 был применен комплексный подход, включающий анализ нуклеотидных последовательностей генов-маркеров, расширенное изучение культуральных свойств, макро- и микро-морфологических характеристик, анализ токсических метаболитов.

Молекулярно-генетические исследования проводили путем секвенирования коротких маркерных участков ДНК («штрихкодов»). В качестве генов-маркеров для проведения филогенетического анализа были выбраны TEF1α (ген фактора элонгации трансляции 1 альфа, размер фрагмента 587 п.н.) и RPB2 (ген большой субъединицы РНК-полимеразы II, размер фрагмента 689 п.н.). Амплифицированные праймеры клонировали в вектор pAL2-T и секвенировали модифицированным методом Сэнгера с использованием флуоресцентной метки на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3730. Анализ маркерных последовательностей генов TEF1α и RPB2 и их сравнение с базой данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/>) проводили по алгоритму BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Филогенетический анализ выполняли в программе MEGA-X с

применением метода максимального правдоподобия (ML) и двухпараметрической модели Кимуры. Достоверность топологий филогенетических деревьев подтверждали с помощью бутстреп-анализа с 1000 повторностей.

Проведенный анализ нуклеотидных последовательностей участков двух маркерных генов исследуемого штамма *F. coffeatum* ION-3/4 выявил 100 % (TEF1α) и 99,45 % (RPB2) сходства с соответствующими последовательностями типового штамма *F. coffeatum* CBS 635.76. Исследование топологии филогенетических деревьев, показало, что штаммы ION-3/4 и CBS 635.76 формируют отдельный кластер с бутстреп-поддержкой 100 % и 99 % соответственно для генов TEF1α и RPB2 [1]. Также важно отметить, что кластер *F. coffeatum* принадлежит к филогенетической кладе *F. incarnatum*, что согласуется с данными, опубликованными ранее [2, 3].

Таким образом впервые на территории России было подтверждено выявление вида *F. coffeatum*, так как согласно данным GenBank (NCBI), до настоящего времени моноспоровые изоляты *F. coffeatum* были выделены только на территории Австралии (FIESC28_10703), Южной Африки (типовой штамм CBS 635.76), Румынии (CBS 430.81).

Макроморфологические характеристики *F. coffeatum* ION-3/4 изучали при культивировании на среде PDA, где отмечено формирование обильного плотного невысокого воздушного мицелия молочно-белого цвета с легким кремовым оттенком, реверс имел более насыщенный кремово-персиковый цвет, по мере старения культуры (более 2 нед.) появлялся более выраженный желтый цвет, который потом переходил в светло-коричневый — «кофе с молоком».

Микроморфологические структуры оценивали на среде CLA при 25 °C на 7-14-е сут. В воздушном мицелии культура *F. coffeatum* ION-3/4 образовывала обильные микро- (в среднем 1,6x6,7 мкм) и мезоконидии (в среднем 2,4x15,2 мкм), макроконидии (в среднем 3,8x24,5 мкм) встречались редко в основном с двумя перегородками, почти прямые, с небольшим изгибом с дорсальной стороны, концевые клетки имели слабо выраженную форму. Образования спородохий не выявлено. В воздушном мицелии наблюдалось обилие веретеновидных мезоконидий без или с одной перегородкой, а также микроконидий овальной или обратно-яйцевидной формы, формируемых в молодых культурах на монофиалидах, а по мере роста — также на полифиалидах (2 и более локусов). Хламидоспоры не были обнаружены. Исследование скорости роста изолята *F. coffeatum* ION-3/4 в диапазоне температур (20-30) °C на средах PDA, CDA, OA

и SNA показало, что независимо от вида субстрата наиболее благоприятная 25 °С.

При сравнении с морфологически близким видом *F. chlamydosporum* (Wollenweber & Reinking) [4] у изолята *F. coffeatum* ION-3/4 отмечается сходство по признакам: отсутствие формирования спородохий и макроконидий в них, форма конидиогенных клеток (моно- и полифиалиды), обилие и форма микроконидий, образование белого воздушного мицелия; отличие в отсутствии у штамма ION-3/4 розового и бордового цвета реверса. По обилию прямых веретенообразных мезоконидий в воздушном мицелии на моно- и полифиалидах изолят *F. coffeatum* ION-3/4 схож с *F. semitectum* (Berkeley & Ravenel) (син. *F. incarnatum*) [4], также их объединяет пониженное образование или отсутствие хламидоспор, что, однако, как и образование спородохий, является штамм-специфичным признаком. При этом в отличие от *F. semitectum*, изолятом *F. coffeatum* ION-3/4 обильно образует микроконидии в молодой культуре, тогда как у *F. semitectum* это отмечают в старых культурах [4], а появление бежевого или коричневого цвета реверса наблюдается только в старой культуре. Полученные характеристики для изучаемого изолята штамма ION-3/4 согласуются с описанием типичного штамма *F. coffeatum* (CBS 635.76), приведенным ранее [3]. Это касается в первую очередь микроморфологических характеристик (форма и размеры образуемых в воздушном мицелии конидий, строение моно- и полифиалид, отсутствие спородохий на CLA). При этом у указанного штамма *F. coffeatum* (CBS 635.76) утрачена способность продуцировать пигменты (от бежевого до кофейно-коричневого цвета) на средах PDA и OA, а на CLA отсутствуют спородохии, что, по мнению авторов, является следствием его вырождения. У полученного нами изолята *F. coffeatum* (ION-3/4), как было описано выше, пигмент образуется на средах PDA, но интенсивность пигментации варьирует на средах разных фирм-изготовителей. В настоящее время в научных публикациях отсутствует более подробное описание *F. coffeatum*.

Изучение спектра токсических метаболитов штамма *F. coffeatum* ION-3/4 проводили в условиях *in vitro* на модельных средах: картофельно-сахарозной среде с разным содержанием агара (от 0 до 1,5% агара), а также на зерне риса. Пробирки с 2 г питательных сред инокулировали споровой суспензией культуры гриба по 0,1 мл в каждую. После культивирования при 25°C и 30°C через 15 и 27 суток исследовали накопление микотоксинов. МТ экстрагировали из субстратного мицелия ацетонитрил-водно-уксусной смесью (80: 20 : 0,5) согласно процедуре описанной Минаевой Л.П. с соавт [5]. Анализировали МТ методом высокоэффективной хроматографии ультравысокого давления с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (УВЭЖХ-МС/МС) в формате мультидетекции в соответствии с методикой, описанной Чалым З.А. с соавт [6]. Определяли содержание 17 МТ (в количествах выше предела количественного определения): трихотеценовые группы А (Т-2, НТ-2, DAS, триол Т-2, NeoS), группы В (DON, 3- и 15-АсDON, NIV, FusX₁), FB1 и FB2, α- и β-ZEL, ВЕА, эниагины А и В.

В результате выявлена способность штамма *F. coffeatum* ION-3/4 синтезировать микотоксины DAS и ВЕА, что ха-

рактерно для видов комплекса *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC), а также достоверно была установлена продукция FB1 и FB2, что ранее не было описано для этого вида.

Таким образом показано, что на территории России впервые выявлен малоизученный вид *Fusarium coffeatum* относящийся к комплексу видов *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC), видовая принадлежность которого подтверждена по результатам секвенирования коротких маркерных участков ДНК по Сэнгеру с последующим филогенетическим анализом. Для штамма *F. coffeatum* ION-3/4 подробно описаны морфологические характеристики. Впервые получены данные о способности *F. coffeatum* в условиях *in vitro* продуцировать фумонизины В1 и В2. Выявление *F. coffeatum* расширяет представления о видовом разнообразии грибов рода *Fusarium* на территории Российской Федерации и дополняет новыми знаниями о географических ареалах распространения этого вида.

Сокращения: дезоксиниваленол (DON), 3-ацетил-дезоксиниваленол (3ADON), 15-ацетил-дезоксиниваленол (15ADON), ниваленол (NIV), 4-ацетил-ниваленол (FUX), FB1: фумонизины В1 и В2 (FB2 и FB2), Т-2 токсин (Т-2), НТ-2 токсин (НТ-2), α- и β-зеараленол (α-ZEL и β-ZEL), диацетоксискирпенол (DAS), неосоланиол (NEO), гвоздично-лиственной агар (CLA), картофельно-декстрозный агар (импортный PDA), картофельно-сахарозный агар (КСА), овсяный агар (ОА), синтетическая среда Ниренберг (SNA), Чапека-Докса агар (CDA).

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ¹ 19-04-00642 А.

Список литературы

1. Минаева Л.П., Самохвалова Л.В., Завриев С.К., Стахеев А.А. Первое выявление гриба *Fusarium coffeatum* на территории Российской Федерации. *Сельскохозяйственная биология*. 2022, 57 (1):131-140. DOI: 10.15389/agrobiology.2022.1.131rus
2. Villani A., Proctor R.H., Kim H-S., et al. Variation in secondary metabolite production potential in the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex revealed by comparative analysis of 13 genomes. *BMC Genomics*, 2019, 20: 314 (doi: 10.1186/s12864-019-5567-7)
3. Lombard L., van Doorn R., Crous P.W. Neotypification of *Fusarium chlamydosporum* — a reappraisal of clinically important species complex. *Fungal Systematics and Evolution*, 2019, 4: 183- 200 (doi: 10.3114/fuse.2019.04.10)
4. *The Fusarium laboratory manual*/J.F.Leslie, B.A. Summerell. Blackwell Publishing, 2006 (doi: 10.1002/9780470278376)
5. Минаева Л.П., Полянина А.С., Киселева М.Г., Чалый З.А., Ефимочкина Н.Р., Шевелева С.А. Изучение контаминации сухофруктов токсигенными плесневыми грибами. *Гигиена и санитария*. 2021;100(7):717-723. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-7-717-723>
6. Чалый З.А., Киселева М.Г., Седова И.Б., Минаева Л.П., Шевелева С.А., Тутельян В.А. Изучение контаминации сухофруктов микотоксинами // *Вопросы питания*. 2021. Т 90, № 1. С. 33-39. DOI: <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-1-33-39>.

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ МИКОБИОТЫ ФИЛЛОПЛАНЫ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ФУНГИЦИДОВ

Стогниенко О.И., Герр Е.С.

Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы и сахара имени А.Л. Мазлумова, Рамонь

Сахарная свекла в РФ выращивается на площади 1,1-1,2 млн га в основном в интенсивных короткоротационных севооборотах. Это приводит к накоплению фитопатогенной микобиоты в почве и при благоприятных погодных условиях к эпифитотиям. Наиболее вредоносной болезнью является церкоспоровая пятнистость листьев (церкоспороз), потери от которой в отдельные годы достигают до 50 %. Поэтому в связи с недостатком технических средств для своевременной фунгицидной обработки, проводят профилактические опрыскивания до появления симптомов болезни на основе мониторинга видового состава и споровой нагрузки на листьях свеклы [1].

Нами проведено изучение влияния многокомпонентных фунгицидов разных химических классов (триазол, триазол+триазол, триазол+азоксистробин), удобрений и иммуномодуляторов в сравнении с контролем на частоту встречаемости (ЧВ) и видовой состав микобиоты листьев сахарной свеклы. Опыт заложен в производственных условиях, площадь под вариантом 3 га, обработку фунгицидами проводили при обнаружении первых конидий *Cercospora beticola* Sacc. (2 декада июля), отборы проб листьев делали через 3 недели после обработки фунгицидами по диагонали участка; микроскопировали эпидерму в 10 полях зрения с верхней и нижней стороны листовой пластинки.

Установлено, что ЧВ конидий грибов выше на верхней стороне листовой пластинки в контрольных вариантах. Конидии *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. не были выявлены в варианте смесового фунгицида пираклостробин + эпоксиконазол (62,5+62,5 г/л) и значительно снижена ЧВ в вариантах пропиконазол + тебуконазол (200+200 г/л), трифлуксистробин + ципроконазол (375 + 160 г/л). Необходимо заметить, что впоследствии (август-сентябрь) выявлены

Таблица 1 - Изменение частоты встречаемости (%) микобиоты филлопланы сахарной свеклы под воздействием фунгицидов через три недели после обработки

симптомы альтернариозной пятнистости на листьях (небольшие некротические пятна).

Конидии *Erysiphe betae* (Vanha) Weltzien присутствовали во всех вариантах, но в сравнении с контролем ЧВ была снижена в вариантах дифеноконазол + флутриафол (65 + 25 г/л) и пикоксистробин + ципроконазол (200+80 г/л). Условия для развития *C. beticola* были неблагоприятными (сухо и прохладно), поэтому данный вид был выявлен только в контроле и с незначительной ЧВ в вариантах пропиконазол (390 г/л) и карбендазим + азоксистробин (300 + 100 г/л). На поверхности листьев сахарной свеклы наблюдается развитие мицелия (М) грибов, который во влажную погоду формирует сеть. М полностью был уничтожен в варианте пираклостробин+эпоксиконазол (62,5+62,5 г/л). Влияние листовых подкормок микроудобрениями на увеличение ЧВ конидий грибов и М не выявлено, но прослеживается влияние на увеличение ЧВ конидиеносцев. В варианте (микроудобрения + иммуномодулятор) наблюдалось снижение ЧВ фитопатогенных грибов или их полное отсутствие, но при этом не было значимого снижения ЧВ мицелия и конидиеносцев.

Необходимо отметить, что симптомы ржавчины свеклы не диагностировались в ЦЧР последние 20 лет. Но при микроскопировании были выявлены с низкой ЧВ споры гриба *Uromyces betae* Pers. Т. о. болезнь в популяции присутствует в скрытом виде без проявления симптомов, что обусловлено неблагоприятными погодными условиями. Гриб *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker ранее выявляли в патоккомплексе корнееда и семенной инфекции сахарной свеклы, по результатам данных исследований можно констатировать, что данный вид может паразитировать на листьях без проявления симптомов (таблица 1).

Вариант (действующее вещество, содержание д.в. г/л)	Норма внесения, л/ га	Сторона листа	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Erysiphe betae</i>	<i>Cercospora beticola</i>	<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	<i>Uromyces betae</i>	Конидии прочих грибов	Аскоспоры	Мицелий	Конидиеносцы
Контроль 1		Н		50						10	30	
		В	50	10					20,5	30	60	5
Контроль 2		Н	30	20	40				40		50	
		В	30	30	5			10	70		40	25
Пропиконазол, 390	0,3	Н	10	50					20		50	10
		В	25	10	5			10	55	15	5	10
Пропиконазол + тебуконазол 200+ 200	0,4	Н		20	10				30		20	
		В	15	15					30		5	10
Дифеноконазол + флутриафол 65 + 25	0,8	Н	10	10					30		30	
		В	15	5					50		10	15
Карбендазим + азоксистробин 300+100	1,0	Н		50	10		10		10		10	
		В	10	20	5				15			10
Пираклостробин + Эпоксиконазол 62,5+62,5	1,75	Н		20		20			20			10
		В		10		5			25			10
Пикоксистробин + ципроконазол 200+80	0,6	Н							20		30	
		В	25	5			5		45		15	15
Трифлуксистробин + ципроконазол 375+160	0,3	Н		20					40		40	
		В	10	5				5	15	5	5	15
Микроудобрения		Н	40	10			10		20		30	20
		В	5	10					20		10	20
Микроудобрения + иммуномодулятор		Н	20	10				10			40	10
		В	15	15		5			80		20	15

Примечание: Н – нижняя сторона листа, В - верхняя сторона листа

Таким образом необходимо констатировать, что наиболее эффективным смесевым фунгицидом, снижающим частоту встречаемости фитопатогенных грибов и мицелия на эпидерме листьев сахарной свеклы, является смесевая фунгицид Пираклостробин + Эпоксиконазол (62,5+62,5 г/л) в норме применения 1,75 л/га.

Профилактическое применение фунгицидов может быть оправдано только в случае положительного прогноза развития церкоспороза. В противном случае есть риск

возникновения резистентности слабопатогенных видов (*A. alternata*), которые развиваются бессимптомно, но с высокой частотой встречаемости и споровой нагрузкой.

Список литературы

1. Стогниенко О.И. Как провести полный комплекс фунгицидных обработок в посевах сахарной свеклы, снизив затраты и пестицидную нагрузку // Сахарная свекла. 2016. № 2. С. 36–37.

О МЕТОДОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОБЛЕМЕ КОМПЛЕКСНОГО ИЗУЧЕНИЯ ТЕЛЕОМОРФ И АНАМОРФ СУМЧАТЫХ ГРИБОВ

Тарасов К.Л.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»

В микологии существовала общая методологическая проблема, связанная с признанием «несовершенных грибов» (дейтеромицетов) как некоего естественного таксона. Основы изучения плеоморфизма были заложены ещё в се-

редине 19-го века, прежде всего, работами Тюляна и де Бари. Постепенно становилось ясно, что несовершенные грибы являются в основном бесполовыми стадиями (анаморфами) аскомицетов. Тем не менее, в микологической

литературе они до последнего времени фигурировали как самостоятельный таксон. Достаточно привести такое высказывание о дейтеромицетах, с точки зрения истории науки, недавнее: «...ранее их считали относящимися к сборной группе *Fungi imperfecti*, а теперь это равноправный класс *Deuteromycetes* среди других общепризнанных классов грибов» [1:89]. Подобный подход приводил к тому, что представители сумчатых (гораздо реже базидиальных) и несовершенных грибов рассматривались порознь.

Действительно, для подобного подхода имелись некоторые объективные причины. Так, «разместить» дейтеромицеты в системе аскомицетов было делом достаточно непростым. В частности, многие аскомицеты, паразитирующие на живых частях растений (травах, листьях деревьев и кустарников) летом (в паразитической стадии) дают бесполое (конидиальное), а после зимовки, на следующий год – половые (сумчатые) спороношения. Хороший пример – возбудитель спорыньи *Claviceps purpurea*. Однако у этого гриба существует великолепное «связующее звено» – склероций. Ни у кого не может вызвать сомнение, что «рожок», выступающий из колоса, и темная структура, прорастающая головчатыми стромами, принадлежат одному и тому же виду грибов. Однако это редчайшее исключение. Во всех остальных случаях, особенно если это объект, не имеющий экономического значения, могло возникнуть сомнение: что это – стадии одного гриба или сукцессия грибов на одном субстрате? Ведь трактовали же *Darluca filum* как стадию ржавчинных, а *Ampelomyces quisqualis* – как стадию мучнисторосяных грибов. [2:427]. Попытки по искусственному получению сумчатой стадии (чашки Клауссена, эффект кромки и др.) давали очень ограниченный эффект. Геносистематика позволила кардинально решить эту проблему. Прорвал последний час «несовершенных грибов» как таксона.

В начале 1970-х годов передо мной стояла такая задача. Дело в том, что конидиальные спороношения типа *Cephalosporium* были известны как у видов *Emericellopsis*, тогда однозначно относимых к эвросциевых, так и у некоторых видов гипокрейнных. Мне предстояло найти критерии, которые бы позволяли разделять «эвросциевые» и «гипокрейнные» виды, для которых телеоморфы были неизвестны. Это не удалось, хотя и использовались разные подходы. И не удалось потому, что разрыва тут и не было: в настоящее время род *Emericellopsis* относят к гипокрейнным, хотя у него и клейстотетий, а не перитетий.

Пожалуй, одним из ярких примеров современного подхода может служить современная система мучнисторосяных грибов [3]. Здесь продемонстрирован явный приоритет признаков анаморфы перед признаками телеоморфы. Так, считается, что виды прежнего рода *Erysiphe*, телеоморфы которого достаточно сходны между собой, необходимо рассматривать как виды двух родов: *Erysiphe* и *Golovinomyces*, исходя из особенностей анаморф. В то же время, роды *Erysiphe s. str.* и *Microsphaera* объединяются из-за сходных анаморф при резком различии облика их телеоморф.

В этом плане как яркий пример верности традиции можно привести М.В. Горленко, всю свою жизнь уделявшему много внимания изучению мучнисторосяных грибов. Так, в частности, ему принадлежит очень ценный труд, посвященный этой группе в динамике. В течение многих лет он постоянно делал сборы *Erysiphales* на Звенигородской биостанции им. С.Н. Скадовского, так что мог не только определить наличие там разных видов, но также и частоту встречаемости и обилие их в разные годы. Результатом этой деятельности стала его монография «Мучнисторосяные грибы» [4].

А между тем уже Негер [3] высказывался о том, что анаморфы могут представлять очень важную информацию для построения системы мучнисторосяных грибов.

В 1921 году Г. Арно [5] описывает новый род *Leveillula* на основании эндофитного расположения мицелия и типа конидиального спороношения (*Oidiopsis*).

П.Н. Головин [6] описал 3 новых таксона (1 вид и 2 подвидов) на основании признаков, причём все они не относились к телеоморфе.

Так, род *Erysiphe* был им разбит на два подрода: *Erysiphe s. str.*, представители которого характеризуются конидиями одиночными, и *Linkomyces*, у представителей которого они в цепочках (впоследствии, согласно требованиям Международного Кодекса Ботанической Номенклатуры, подрод *Erysiphe s. str.* был переименован в *Golovinomyces*, а подрод *Linkomyces* – в *Erysiphe s. str.*).

Впоследствии В.П. Гелюта [7] возвел эти подроды в ранг родов, что ныне считается общепризнанным.

Вторым описанным П.Н. Головиным таксоном был род *Blumeria*, в который был выделен всего один род – *Erysiphe graminis*, отличающийся, прежде всего, 3 признаками:

1. расширенный (вздутый) посередине конидиеносец;
2. гаустории в виде ладоней с пальцами;
3. хозяева однодольные (злаки), тогда как все остальные *Erysiphales* паразитируют на двудольных.

Однако эти изменения не нашли никакого отражения в упомянутой монографии М.В. Горленко.

В последнее время наметилась также, тенденция к переоценке значения анаморф для классификации *Erysiphales*. Так, в одной из самых поздних систем этой группы [3] род *Sphaerotheca* объединен с родом *Podosphaera* (на правах подрода), а род *Microsphaera*, как уже упоминалось выше, – с родом *Erysiphe* (на правах секции). Здесь учитываются, прежде всего, особенности анаморф, подкрепленные данными геносистематики. Фактически признаки телеоморф полностью игнорируются.

Резюмируя изложенное, можно сделать следующий вывод: необходимо постоянно совмещать «на равных» признаки телеоморф и анаморф при построении систем *Ascomycota*.

Список литературы

1. Хохряков М.К. О современном состоянии систематики фитопатогенных грибов // Микол. и фитопатол. 1972. Т. 6. Вып. 1. С. 89-94.
2. Курсанов Л.И. Микология. М.: Государственное учебно-методическое издательство Наркомпроса РСФСР. 1940. 483 с.
3. Braun U., Cook R.T.A. Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews) Utrecht: CBS-Knaw Biodiversity Centre. 201. 707 p.
4. Горленко М.В. Мучнисторосяные грибы Московской области (Семейство Erysiphaceae). М.: Издательство биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. 2018. 76 с.
5. Arnaud G. Étude sur les champignons parasites. Ann. Epiphyt. // 1921. Vol. 7. P. 1-116
6. Головин П.Н. Новые формы грибов рода *Erysiphe* // Ботан. матер. отд. спор. раст. БИН АН СССР. 1958. Т. 9. С. 123-129.
7. Гелюта В.П. Флора грибов Украины. Мучнисторосяные грибы. Киев: Наукова думка. 1989. 256 С.

ИНОКУЛЯЦИЯ СЕМЯН СОЕВЫХ БОБОВ (*GLYCINE MAX*) АРБУСКУЛЯРНЫМИ МИКОРИЗНЫМИ ГРИБАМИ

Умаров Б.Р.

Ташкентский научно исследовательский институт вакцины и сывороток, Ташкент, Республика Узбекистан

Введение. Настоящее время все большее внимание уделяется поддержанию популяции полезных микроорганизмов в почве с помощью устойчивых методов ведения сельского хозяйства [1]. В такие организмы можно включить гифов почвенных грибов в почве, эти микробы могут значительно улучшить как воду, так и питательные вещества, доступные растениям.

Соя является экономически важным сельскохозяйственным продуктом во всем мире. При выращивании сои и других бобовых растений инокуляция бактериями и грибами приводит к улучшению урожая, как ризобияльные бактерии, так и микориза может стать важной альтернативой для смягчения негативных влияния особенностей выветривания почв на урожайность этих культур. Учитывая экономическую важность производства как сои, так и других бобовых растений считаются для удовлетворения мировых потребностей в продовольствии, использование симбиотических полезных микроорганизмов, таких как микориза, может стать важной альтернативой для смягчения негативных влияния особенностей выветривания почв на урожайность этих культур [2]. Показано, что ассоциация между растениями и облигатными биотрофными грибами может значительно увеличить поглощение питательных веществ из почвы и улучшения роста урожая [3], за счет увеличения площади почвы, исследуемой корневой системой. Также имеются много научные данные, что АМ индуцирует устойчивость к различным абиотическим стрессам, таким как засоление и засуха [4].

Целью работы является применение различных микробных препаратов при моно-и двойной инокуляции семян (бобов) и изучение их влияния на основные показатели продуктивности растений сои.

Материал и методы. Материалом для исследований послужил образец сои (*Glycine max*) сорт Генетик 1 из коллекции лаборатории частной и прикладной генетики растений Института генетики и экспериментальной биологии растений АН Республики Узбекистан. Штамм *Sinorhizobium fredii* был выделен нами ранее из клубеньков сои, выращенного на опытном участке ИГиЭБР АН РУз. Штамм *Sinorhizobium fredii* выращивали в среде, приведенной в работах *Shamseldeen A* [5], с некоторыми модификациями, на качалке при 180 об/мин в течение 3-х дней до логарифмической фазы роста до 108кл/мл. Арбускулярная микориза (АМ) была получена из Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (Россия), ранее микоризовавшая корни люцерны.

Полевые испытания, посадочный материал, обработка семян и внесение удобрений проводили в институ-

те риса и зернобобовых культур Ташкентской области на опытном участке вегетационного сезона 2016/2019 годов. Удобрения также вносились в соответствии с местными рекомендациями. Все питательные вещества были применены в равной степени ко всем обработкам, за исключением Р.

Оценки. Влияние обработок на рост и продуктивность сои оценивали путем оценки высоты растений на ранних стадиях цветения, начальный стручок и сухой надземной биомассы, стадия роста (раннее развитие семян) путем случайной выборки пяти растений на участке. Урожайность и масса в тысячу зерен (1000 шт/г) оценивались путем сбора урожая площадью 1 м² на каждом участке, и при необходимости значения корректировались до влажности 13%.

Результаты и обсуждение. Результаты вегетационного опыта показали, что предпосевная инокуляция семян сои со штаммом *Sinorhizobium fredii* и двойная инокуляция (клубеньковая бактерия + АМ) оказывают существенное влияние на формирование симбиотического аппарата за счет формирования клубеньков и на рост их массы. Исходя из результатов лабораторных исследований и анализов их результатов, закладывали полевые опыты в 2016-2019 гг., как описано в разделе «Материалы и методы». Инокуляцию семян со штаммом *Sinorhizobium fredii* и Арбускулярными микоризами проводили за три часа до посева, опрыскивая семена клубеньковыми бактериями 108кл/мл. После посева семян в почву следили за её влажностью в течение 3-х дней, наблюдали за развитием микроорганизмов и, при необходимости, проводили поливы. По полученным результатам, вегетационный период растения соя составил 90-100 дней. За это время проводили фенологические наблюдения, учитывая климатические и агротехнические условия, отмечали даты бутонизации и цветения растений. Результаты проведенных исследований показали, что применение штамма *Sinorhizobium fredii* и Арбускулярные микоризами способствует увеличению крупности семян в среднем на 10% по сравнению с контролем. При внесении в почву грибов АМ семенная продуктивность растений увеличивается в среднем на 40%. При использовании грибов арбускулярной микоризы масса 1000 семян увеличивается в среднем на 20%. Двойная инокуляция способствует повышению семенной продуктивности в среднем на 40% по отношению к контролю. Прибавка биомассы растений составила в среднем 20%, массы 1000 семян –15%, семенной продуктивности –35%. Масса 1000 семян нута в зависимости от вариантов опытов колебалась от 310,5-370,6г. Данные влияния инокуляции семян нута микробиологических препаратов на массу 1000 семян и семенную продуктивность представлены в таблице 2

Таблица 1. Влияние инокуляции микробиологических препаратов на семена нута

	Масса растений, г	Прибавка массы растений к контролю, %	Количество клубеньков 1 раст., шт.	Высота растений, м	Содержание белка в семенах, %
Контроль	27,8	-	-	0,43	22,5
AM	30,5	10	65	0,43	23,8
<i>S.fredii</i> + AM	33,4	20	45	0,44	25,0
НСР 0,05	0,21	0,15	4,70	3,52	1,86

Таблица 2. Влияние микробиологических препаратов на массу 1000 семян и семенную продуктивность

Контроль		<i>Sinorhizobium fredii</i>		<i>Arbuscular mycorrhiza</i>		<i>Sinorhizobium fredii</i> + AM	
1000 семян, г	масса семян на 1 м ²	1000 семян, г	масса семян на 1 м ²	1000 семян, г	масса семян на 1 м ²	1000 семян, г	масса семян на 1 м ²
310,5	50,7	345,0	80,2	370,3	89,8	370,6	89,0

НСР 0,05 = 42,02

НСР 0,01 = 57,04

MED 0,05 = 42,020,01 = 57,04

Увеличение выхода может быть связано со многими сложными процессами, такими как усиленное поглощение аммония (NH₄⁺), вызванное экспрессией высоко- и низко-аффинных переносчиков NH₄⁺, выделением различных фосфор разрушающими кислотами AM.

Выводы. Обработка семян с микробами можно рассматривать как важную альтернативу повышению устойчивости выращивания сои и бобовых растений, в ближайшие десятилетия, чтобы прокормить растущее население без значительного расширения земельных площадей.

Список литературы

1. Thirkell T.J., Charters M.D., Elliott A.J., Sait S.M., Field K.J. Are mycorrhizal fungi our sustainable saviours? Considerations for achieving food security // J Ecol. 2017. 05: P. 921–929.
2. Bowles T.M., Barrios-Masias F.H., Carlisle E.A., Cavagnaro T.R., Jackson L.E. Effects of arbuscular mycorrhizae on tomato yield, nutrient uptake, water relations, and soil carbon dynamics under deficit irrigation in field conditions // Sci Total Environ. 2016. 566: P. 1223–1234.
3. Salam E.A., Alatar A, El-Sheikh, M.A. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi alleviates harmful effects of drought stress on damask rose // Saudi J Biol Sci. 2017. 25 (8): P.1772– 1780.
4. Умаров Б.Р., Ядгаров Х.Т., Абзалов М.Ф., Сагдиева М.Г. использования штамма *Mesorhizobium ciceri*2 для повышения эффективности симбиотических свойств систем нута // Биотехнология. Теория и практика. 2015, no. 1, pp. 64-70. DOI: 10.11134/btp.1.2015.71
5. Shamseldeen A., Vinuesa P., Thierfelder H., Werner D. *Rhizobium etli* and *Rhizobium gallicum* nodulate *Phaseolus vulgaris* in Egyptian soils and display cultivar-dependent symbiotic efficiency // Symbiosis. –2005. – Vol.38. –P. 145-161.

БОЛЕЗНИ И ЗАРАЗИХА КАК КРИТИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ ФИТОСАНИТАРНОГО СОСТОЯНИЯ ПОСЕВОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА В АГРОЦЕНОЗАХ РОССИИ

Якуткин В.И.

Вейделевский институт подсолнечника (ВИП), Вейделевка, Белгородская область

В России на подсолнечника зарегистрирован многочисленный комплекс вредных объектов, включающий инфекции грибных болезней, бактериальные и вирусные заболевания, сорную растительность с заразой, вредители и неинфекционные факторы различной этиологии. В последние десятилетия и настоящее время грибные инфекции являются наиболее опасными для посевов подсолнечника в агроценозах России (Якуткин, 2001). Среди грибных

болезней наиболее вредоносными являются белая гниль, серая гниль, ложная мучнистая роса, фомпсис. Периодически вредоносно проявляются пепельная гниль, альтернариоз, ржавчина и некоторые другие. В последние годы в России резко возросла распространённость и вредоносность цветкового паразита – заразики. Распространённость и вредоносность отдельных болезней и заразики на посевах подсолнечника указаны в таблице.

Таблица. Распространенность и возможная вредоносность отдельных болезней и заразики подсолнечника в агроценозах России

Вредный объект	Возбудитель	Ареал распространения	Возможные потери урожая/ при полном поражении растений, в %
Белая гниль	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	повсеместно	до 60% /55%
Серая гниль	<i>Botryotinia fuckeliana</i>	повсеместно	до 55% / 60%
Ложная мучнистая роса (ЛМР)	<i>Plasmopara halstedii</i>	повсеместно	до 40% / 60%
Фомопсис	<i>Diaporthe (Phomopsis) helianthi</i>	повсеместно	до 35% / 50%
Пепельная гниль	<i>Macrophomina phaseolina</i>	повсеместно	до 30% / 55%
Альтернариоз	<i>Alternaria helianthi</i>	повсеместно	до 30% /85%
Ржавчина	<i>Puccinia helianthi</i>	повсеместно	до 25% / 100%
Заразиха	<i>Orobanche cumana</i>	повсеместно	до 55% /60%

В настоящее время в агроценозах России с подсолнечником все грибные болезни, имея высокий инфекционный потенциал в виде почвенной, аэрогенной и семенной источников инфекции, создают серьёзную проблему для их контроля. Источниками инфекции у заразики является почва и семена подсолнечника. Имеются предположения, что трансмиссию паразита могут осуществлять насекомые и птицы. Решающим фактором в проявлении вредных объектов на подсолнечнике являются погодные условия, которые характеризуются гидротермическим коэффициентом (ГТК). Среди всех грибных инфекций подсолнечника белая гниль является наиболее вредоносной. В России болезнь появилась более двух веков назад и к настоящему времени распространилась по всему ареалу подсолнечника. При эпифитотийном проявлении гнили потери урожая могут достигать 60% (табл.) , а иногда и более. Как правило, её эпифитотийное проявление происходит при ГТК погоды с показателем не менее 1,5 в период бутонизации и до конца цветения подсолнечника. Зонами наибольшего риска болезни являются предгорные районы Северного Кавказа и северная часть Центральной Чернозёмной Зоны (ЦЧР). Подобное здесь наблюдается до 5 раз в десятилетие. В других районах ареала подсолнечника вредоносное проявление белой гнили происходит 1-3 раза за десятилетие.

Поражение культуры серой гнилью в основном приурочено к всходам подсолнечника и его созреванию. В период созревания подсолнечника при ГТК 1,4 и более болезнь течение короткого времени вызывает сокрушительные потери урожая, которые могут достигать 55% и более. Серая гниль в осенний период проявляется повсеместно, но наиболее часто в ЦЧР, Краснодарском крае, отдельных местах Южного Урала с частотой до 7 раз в десятилетие. В других местах массовое её проявление может быть до 3 раз за десятилетие. Ложная мучнистая роса (ЛМР) подсолнечника впервые выявлена в СССР

в Закарпатской области в 1946 году. После этого вскоре в 1948 году она обнаружена на Дальнем Востоке. В настоящее время ЛМР поражает подсолнечник повсеместно, с возможными потерями урожая до 40%. Наибольший риск болезни приурочен к ЦЧР, Северному Кавказу. В популяциях возбудителя болезни (*Pl.halstedii*) постоянно происходят микроэволюционные процессы, приводящие к появлению новых физиологических рас с расширяющимся спектром вирулентности. Выявлено несколько десятков рас, которых пытаются использовать в зарубежной практике при селекции подсолнечника на устойчивость в патогену. В России физиологические расы впервые были обнаружены в 1999 году на посевах подсолнечника Вейделевского института подсолнечника (ВИП) Белгородской области (Якуткин и др., 2002). В многолетних исследованиях в ВИП был выявлен ряд устойчивых форм подсолнечника к обнаруженным расам патогена (Tavoljanski et al., 2001).

Фомопсис – относительно новое заболевание подсолнечника в России. Впервые в стране он обнаружен в ЦЧР в 1988 году, а затем в 1990 году в Ставропольском крае в окрестностях г. Пятигорска. С этого времени фомопсис распространился повсеместно в агроценозах России с подсолнечником и возможными потерями его урожая до 35%. При ограниченном увлажнении посевов культуры при ГТК от 0,8 до 1,2 и окружающей температуре воздуха 25° - 27°С заболевание проявляется наиболее интенсивно. Зонами максимального риска, где поражение и подсолнечника фомопсисом может достигать 50% и более, являются ЦЧР и Северный Кавказ. В других местах ареала подсолнечника с умеренным риском болезни, поражение растений не превышает 20% (Yakutkin, 2021).

Пепельная гниль, возбудителем которой является термофильный гриб *Macrophomina phaseolina*, определённое время поражала подсолнечника в основном в южных районах его ареала на Северном Кавказе, в Нижнем Поволжье и Южном Урале. Десять лет назад это заболевание

неожиданно появилось в ЦЧР и стремительно распространилось здесь повсеместно через семенную инфекцию. К настоящему времени пепельная гниль присутствует повсеместно в ареале подсолнечника страны. При поражении подсолнечника заболеванием до 55% возможные потери урожая могут достигать 30%. Зонами наибольшего риска болезни на подсолнечнике являются Северный Кавказ, Нижнее Поволжье и Южный Урал. Альтернариоз наиболее интенсивно поражает подсолнечник в условиях жаркой погоды от 27°C и влажности воздуха более 80%. Заболевание распространено повсеместно, поражая листья, стебли и семена в корзинках, вызывает при этом потери урожая до 30%. Критической зоной болезни является европейский ареал культуры страны.

В последнее десятилетие повсеместно на подсолнечнике произошло резкое нарастание ржавчины. В царской России и до середины 50-х годов 20 века в СССР ржавчина была крайне вредоносна. Потери урожая от болезни в отдельные годы достигали 38% и более (Целле, 1932). Устойчивые сорта, созданные в ВНИИМК, ограничили вредоносность болезни (Пустовойт, 1960). В настоящее время при повсеместном проявлении ржавчины потери урожая подсолнечника в России пока не превышают 25%. Известны источники генетической устойчивости подсолнечника к болезни, которые в ряде стран используются в селекции культуры.

Цветковый паразит – заразиха – традиционный, повсеместно опасный вредный объект подсолнечника. Контроль болезни всегда успешно решался с помощью селекции на устойчивость сортифта культуры к паразиту. В последнее время в стране заметно усилилась заселенность посевов подсолнечника заразихой. Возможные потери урожая от паразита могут достигать 55% и более. В ареале подсолнечника зонами максимального риска к заразихе являются аридные территории ЦЧР, Северного Кавказа, Нижнего Поволжья и Южного Урала. Выявлен ряд физиологических рас паразита, которые учитывают при создании устойчивого сортифта подсолнечника.

Посевы подсолнечника в России постоянно расширяются и к настоящему времени превышают 10 млн га. Для оптимизации фитосанитарного состояния его посевов

насыщенность культурой в агроценозах не должна превышать 9%. Полагаем, что этот показатель в настоящее время в России завышен. Для защиты подсолнечника от вредных объектов рекомендована система мероприятий, включающая оптимальную ротацию в севооборотах не менее 5 лет, химическую защиту, устойчивый к объектам сортифт и совершенную агротехнологию выращивания культуры. Как показали наши многолетние испытания химических препаратов против различных грибных инфекций подсолнечника большинство их оказались не эффективными. Среди всех испытанных химических препаратов эффективным оказался только препарат на основе действующего вещества Мефеноксана против семенной инфекции ЛМР. В настоящее время только комплексно устойчивые сорта и гибриды могут обеспечить наиболее эффективную оптимизацию фитосанитарного состояния посевов подсолнечника в условиях сформировавшихся популяций опасных вредных объектов в агроценозах России.

Список литературы

1. Якуткин В.И. Болезни подсолнечника в России и борьба с ними. Защита и карантин растений, no.10, с. 26-29, 2001.
2. Якуткин В.И., Ахтулова Е.М. Физиологические расы возбудителя ложной мучнистой росы подсолнечника в России. Современная микология в России. Первый съезд микологов России. Тезисы докладов. Раздел 7, с. 217-218, М., 2002.
3. Tavoljanski N., Yesaev A., Yakutkin V., Akhtulova E., Tikhomirov V. Using of the collection of wild spesies in sunflower breeding. Fifth European Conference on Sunflower Biotechnology. November 4-8, 2001. San Giuliana Terme (Pisa), Haly, 2001, 2 p.
4. Yakutkin V.I. Infection Potential of the Causative Agent of Sunflower Phomopsis and Its Influence on Disease Expansion in Russia and Neighboring Countries. International Journal of Applied Agricultural Sciences. Vol.7, No. 6, 2021, pp. 269-276.
5. Целле М.А. Болезни подсолнечника. Л., 1932. 31 с.
6. Пустовойт В.С. Межвидовые ржавчиноустойчивые гибриды подсолнечника. Отделение гибридизации растений. М., 1960. С. 376-378.

РАЗНООБРАЗИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВИДОВ РОДА COLLETOTRICHUM, ПАРАЗИТИРУЮЩИХ НА КУЛЬТУРНЫХ ПАСЛЕНОВЫХ

Ярмеева, М.М.¹, Курчаев, М.Л.², Кутузова, И.А.¹, Чудинова, Е.М.², Еланский, С.Н.^{1,2}

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

² Аграрно-технологический институт Российского университета дружбы народов, Москва

Введение

Антракноз, вызываемый грибами рода *Colletotrichum*, является одним из самых распространенных и опасных заболеваний пасленовых растений. Он также опасен и для других культур. Антракноз поражает все органы растения, вызывая различные гнили, некротические поражения листьев и прочих частей растения (Belov et al., 2018). На клубнях картофеля грибы этого рода вызывают заболевание «черная пятнистость» (black dot), симптоматически похожее на серебристую паршу. Вызываемые *C. coccodes* заболевания не только опасны сами по себе, но и открывают путь в ткани растения прочим инфекционным агентам, из-за чего суммарные потери урожая могут достигать 30%. Грибы рода *Colletotrichum* входят в топ-10 фитопатогенов, наиболее важных для науки и экономики (Dean et al., 2012).

Внутри рода *Colletotrichum* выделяют множество видов, которые могут заражать широкий круг растений. Источником инфекции может служить нетипичный для растения вид патогена, отличающийся по биологическим особенностям. Для эффективной защиты требуется постоянный мониторинг видового и штаммового разнообразия региональных популяций *Colletotrichum spp.*, изучение их патогенности и устойчивости к фунгицидам. Целью настоящей работы было изучение видового и внутривидового разнообразия, патогенности и устойчивости к некоторым химическим фунгицидам штаммов *Colletotrichum spp.*, выделенных с пораженных органов картофеля, томата, баклажана и перца.

Материалы и методы

Штаммы были собраны с пораженных антракнозом вегетативных и генеративных органов картофеля, томата, баклажана и перца в разных регионах России, Германии, Голландии, Кипра, Уганды и Австралии в период с 2013 по 2021 год (точками указаны места сбора изолятов). Выделение чистых культур, экстракцию ДНК, проведение ПЦР и секвенирования, анализ видоспецифических последовательностей проводили как описано в работе Kutuzova et al. (2017).

Видовую принадлежность штаммов определяли по последовательностям следующих участков (в скобках указаны использованные праймеры): ITS1-5,8S-ITS2 (ITS1, ITS4); генов глутамин-синтазы (gs) (GSF1, GSR1), глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (gapdh) (GDF-1, GDR-1), актина (act) (ACT-512F, ACT-783R). Филогенетические деревья строили методом максимального правдоподобия в программе MEGA X. При построении деревьев были использованы последовательности типовых штаммов из базы данных GenBank. Всего было изучено 74 штамма гриба.

Для оценки патогенности были взяты плоды томата черри (диаметром около 25-35 мм) молочной степени зрелости, поверхность которых стерилизовали в 0.5% растворе гипохлорита натрия в течение 5 минут, затем промывали дистиллированной водой и сушили на воздухе. Плоды заражали уколом, внося суспензию мицелия и спор гриба. Для проверки патогенности штамма на неповрежденных плодах на место крепления плодоножки наносили мице-

лий со спорами гриба. Зараженные томаты закладывали во влажные камеры и держали в термостате при температуре 10°C. Учет диаметров повреждения проводили через 21 день для зараженных уколом плодов и через 21 и 35 дней для зараженных без укола. Для подтверждения источника заражения кусочки ткани плода у края поражения высевали на питательную среду. Для оценки патогенности были отобраны 10, выделенных с разных растений-хозяев.

Изучение устойчивости к фунгицидным препаратам проводили на питательной среде (картофельно-глюкозный агар) с добавлением фунгицида в разных концентрациях. Были проанализированы фунгициды азоксистробин (препарат Квадрис) и дифеноконазол (препарат Скор). В качестве контроля использовали среду без фунгицида. Мицелиальный блок диаметром 7 мм помещали в центр чашки Петри со средой и через десять дней измеряли радиус колонии. На основании сравнения роста штамма на среде с фунгицидом и в контроле рассчитывали показатель ЕС50 (концентрацию фунгицида, в 2 раза замедляющую скорость роста колонии гриба относительно контроля). Все эксперименты проводили в 3 повторностях.

Результаты и обсуждение

Анализ участка ITS1-5,8S-ITS2 оказался неэффективен для определения видовой принадлежности у грибов рода *Colletotrichum*: *C. coccodes* и *C. nigrum* оказались в одном кластере, что не позволило разграничить виды по участку ITS.

Для гена глутамин-синтазы в базе данных GenBank нет последовательности типового штамма *C. nigrum*, но надо отметить, что штаммы, определенные нами как *C. nigrum*, достоверно отличались от *C. coccodes*. Интересно, что по последовательностям генов act и gapdh два штамма с томата (C18M(L)TF1/1 и C18U(G)TF1/1) оказались в одном кластере с *C. coccodes*. В последовательностях гена gs C18M(L)TF1/1 присутствуют нуклеотидные замены, характерные для томатных штаммов *C. nigrum*. Телеоморф у *C. coccodes* обнаружено не было, так что генетическая рекомбинация у него, вероятно, идет при парасексуальном процессе. Последовательности генов act и gapdh штамма C18U(G)TF1/1 были полностью идентичны *C. coccodes*. Интересно, что штаммы с томата, принадлежащие к виду *C. coccodes*, были собраны с растений, выращенных рядом с картофелем, хотя и в разных регионах: C18M(L)TF1/1 в Московской области, а C18U(G)TF1/1 – в Приморском крае.

Последовательности ДНК генов act и gapdh штаммов, выделенных с томата (11 штаммов, исключая C18M(L)TF1/1 и C18U(G)TF1/1), баклажана (6 штаммов) и перца (5 штаммов) были идентичны последовательностям штаммовиды *C. nigrum* (CBS:132450, CBS:169.49, CBS:127562). Последовательности штаммов, выделенных с картофеля (50 штаммов), были идентичны последовательностям штаммов, принадлежащим к виду *C. coccodes* (CBS:369.75, CBS:164.49). Органоспецифической или географической кластеризации штаммов выявлено не было.

Оценка патогенности к томату была проведена на 10 штаммах: 2 выделенных с перца, 2 с картофеля, 3 с бакла-

жана и 3 с томата. Абсолютно все исследованные штаммы показали способность заражать плоды томата (табл. 1). Результаты свидетельствуют, что три недели достаточно для поражения большей части плода при заражении уколom

(через поранение), но для проникновения патогена в ненарушенный плод требуется около месяца.

Таблица 1.

Поражение плодов томата штаммами *Colletotrichum* sp.

Растение-хозяин	Штамм	Диаметр зоны поражения плода, мм		
		через 21 день		через 35 дней
		Заражение уколom (поранение плода)	Без поранения плода	Без поранения плода
Баклажан	C21KSEgF7	9,5	0	1,7
	C21KSEgF3	6,33	0,17	4
	C21KSEgF4.1	6,33	0,17	4,6
Перец	C21KSPeF6	7,3	2	19,6
	C21KSPeF19	10,33	0,5	5
Картофель	C20AuPT 5a	12,33	0,33	4
	Cc20UgKgPT2	10,33	2,33	4,3
Томат	C21KSTF88	16,6	1	6,6
	C21KSTF97	15	1	2,3
	C21KST3F2	12,6	0,33	6,3

Все штаммы оказались чувствительны как к азоксистробину, так и к дифеноконазолу. Показатель EC50 находился в промежутке от 0,05 до 9,07 мг/л для азоксистробина и между 0,05 и 0,12 мг/л для дифеноконазола.

В работе показано, что штаммы, выделенные из листьев, плодов и стеблей картофеля в разных регионах мира, а также некоторые из выделенных с томата относятся к виду *S. coccoodes*. Выделенные с плодов томата (кроме двух), баклажана и перца штаммы относятся к виду *S. nigrum*. Филогенетический анализ не выявил кластеризации штаммов по географическому принципу или по органу растения, из которого они были выделены. Плоды томата поражались штаммами обоих исследованных видов, выделенными из разных культивируемых пасленовых растений. Фунгициды азоксистробин и диметоморф показали высокую эффективность в отношении всех исследованных штаммов.

Исследование выполнено при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 20-016-00139).

Список литературы

1. Belov G.L., Belosokhov A.F., Kutuzova I.A., et al. *Colletotrichum coccoodes* in potato and tomato leaves in Russia // Journal of Plant Diseases and Protection. – 2018. – Т.125(3). – С. 311-317.
2. Dean R., Van Kan J.A., Pretorius Z.A., et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology // Molecular plant pathology. – 2012. – Т.13(4) – С. 414-430.
3. Kutuzova I.A., Kokaeva L.Y., Pobedinskaya M.A., et al. Resistance of *Helminthosporium solani* strains to selected fungicides applied for tuber treatment // Journal of Plant Pathology. – 2017. – Т.99(3) – С. 635-642.

О МЕХАНИЗМАХ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ БИОПЕСТИЦИДОВ НА ОСНОВЕ *BACILLUS SUBTILIS* В СОЧЕТАНИИ С СИГНАЛЬНЫМИ МОЛЕКУЛАМИ ПРОТИВ *RHYTOPIHTHORA INFESTANS* MONT. DE BARY В ИЗМЕНЯЮЩИХСЯ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ

^{1,2}Яруллина Л.Г., ¹Бурханова Г.Ф., ²Цветков В.О., ¹Черепанова Е.А., ¹Сорокань А.В., ¹Заикина Е.А.

¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

²Бакирский государственный университет, Уфа

Растущий спрос на производство органической продукции и повышающиеся требования к снижению пестицидной нагрузки приводят к необходимости поиска экологически безопасных путей повышения устойчивости растений к неблагоприятным климатическим изменениям и защиты от патогенов. В связи с этим наиболее перспективными являются микробиологические подходы и приемы, которые основаны на использовании потенциала растений и почвенных микроорганизмов. Основу экологически безопасных препаратов для защиты растений от стрессов биотической и абиотической природы составляют стимулирующие рост растений бактерии (СРРБ). Бактерии рода *Bacillus* имеют важное значение, так как характеризуются мощным биосинтетическим потенциалом и с высокой экологической пластичностью [1,2]. Известно, что ризобактерии, в том числе из рода *Bacillus*, и их метаболиты способны стимулировать рост и развитие растений [3], повышать устойчивость к абиотическим стресс-факторам [4], имеют важное значение как агенты биологической защиты от фитопатогенов [5,6]. Защитный спектр биопрепаратов на основе бактерий рода *Bacillus* можно значительно расширить, комбинируя их с сигнальными молекулами [7-9].

В опытах использовали растения картофеля, выращенные из микроклубней восприимчивого сорта Ранняя роза. Растения выращивали в сосудах с землей на светоплощадке с фотопериодом 16 ч (освещенность 8000–10000 люкс) при температуре 20–22 °С. На 15-е сутки после прорастания растений часть из них опрыскивали суспензией (5 мл на 1 растение) бактерий *B. subtilis* штамм 26Д (108 клеток / мл) и в смесь бактерий с салициловой (СК) 10-6 М, жасмоновой (ЖК) 10-7 М кислотами или их смесью (1:1). На 3-и сутки после инокуляции *B. subtilis* 26Д растения опрыскивали 5 мл 1x10⁵ спор / мл суспензии *P. infestans*. В качестве контрольных использовали растения, не инокулированные бактериями и не инфицированные фитопатогеном.

Дефицит влаги создавали за счет уменьшения полива. Через 7 дней после инфицирования *P. infestans* (влажность почвы 40% ± 5) определяли активность ферментов, содержание пероксида водорода и пролина в листьях. Часть листьев каждого растения замораживали в жидком азоте и хранили при -70 °С для выделения РНК и белков. О развитии болезни судили по проценту пораженной площади от общей площади листовой пластинки на 7-е сутки после заражения растений *P. infestans*.

Выявлено снижение степени развития *P. infestans* на листьях картофеля при обработке растений бактериями *B. subtilis* в сочетании с сигнальными молекулами. Предобработка *B. subtilis* совместно с ЖК оказывала наиболее эффективное защитное действие, снижая степень развития патогена на 30%. Механизм активации защитных систем растений картофеля бактериями рода *Bacillus* и сигнальными молекулами в условиях засухи был связан с накоплением пероксида водорода, повышением активности антиоксидантных ферментов (каталазы и пероксидазы) и экспрессии генов PR-белков. В инфицированных растениях при недостатке влаги происходит изменение активности изоформ пероксидазы – исчезает анионная изоформа с pI 3,5, при этом активируются нейтральные изоформы с pI 6,2 – 6,6 и катионная с pI 9,2. Обработка *B. subtilis* в сочетании с СК и ЖК, способствует не только сохранению активности всех изоформ пероксидазы, но активирует анионную изоформу, что предполагает перераспределение и миграцию части изопероксидаз в клеточную стенку.

Обработка *B. subtilis*, особенно в сочетании с сигнальными молекулами, стимулировала накопление транскриптов генов PR-1 (секретируемый антимикробный белок), PR-6

(ингибиторы протеиназ) и PR-9 (пероксидаза) в растениях картофеля. Ген PR-1 наиболее интенсивно экспрессировался у растений, обработанных бактериями в сочетании с СК. Обработка *B. subtilis* в сочетании с ЖК приводила к значительному увеличению уровня транскрипции гена PR-6 у неинфицированных и инфицированных растений по сравнению с контролем. Обработка бактериями *B. subtilis* оказывала значительное влияние на повышение уровня экспрессии PR-1 и PR-6 у незараженных растений в условиях засухи. Комбинация бактерий с СК и ЖК в данном случае имела, как правило, меньший, а в некоторых случаях даже отрицательный эффект, например, экспрессия PR-6 снижалась в комбинации с СК. У инфицированных растений, обработанных бактериями в сочетании с СК или ЖК, в условиях засухи значительно повышалась экспрессия всех исследуемых PR-белков. Вероятно, сочетание бактерий *B. subtilis* с сигнальными молекулами усиливает передачу сигналов, запускающих работу защитных механизмов, повышая устойчивость растений к стрессовым факторам биотической и абиотической природы за счет индукции транскрипционной активности генов защитных пептидов.

Результаты исследований изменений протеома картофеля методами двумерного электрофореза и масс-спектрометрии при обработке бактериями *B. subtilis* в сочетании с сигнальными молекулами, инфицирования *P. infestans* в нормальных условиях и при недостатке влаги выявили более 20 белков, содержание которых в листьях значительно изменялось в зависимости от варианта опыта. Инокуляция *B. subtilis* в сочетании с сигнальными молекулами в нормальных условиях вызывала значительные изменения в протеоме листьев. Недостаток влаги также оказался одним из факторов, существенно изменяющих спектр растительных белков, который приводил к значительному повышению содержания серин-треониновой протеин-фосфатазы, вовлеченной в СВЧ-реакцию, регуляцию активности ферментов и сигнальные пути, а также к пятикратному повышению содержания сесквитерпен-синтазы.

Одно из наиболее сильных отличий в спектре белков наблюдалось у зараженных *P. infestans* растений, обработанных *B. subtilis* в сочетании с ЖК, что согласуется с наибольшим снижением степени пораженности листьев картофеля. Для данного варианта опыта характерна высокая концентрация фосфорилированной изоформы выделяющего кислород белка-энхансера (ОЕЕР), вовлеченного в генерацию АФК, тогда как у контрольных растений присутствовала в значительном количестве лишь нефосфорилированная форма ОЕЕР. Таким образом, сочетание эндофитных бактерий *B. subtilis* с ЖК позволяет индуцировать в растениях картофеля активность ОЕЕР, интенсифицируя комплекс защитных реакций, способствующих повышению устойчивости к патогену в условиях абиотического стресса.

Показано, что содержание ряда белков регулируется действием бактерий, сигнальных молекул, патогеном *P. infestans* или сочетанием перечисленных факторов. В условиях дефицита влаги и заражения *P. infestans* предобработка растений бактериями *B. subtilis* в сочетании с ЖК индуцирует синтез и активацию белков, вовлеченных в СВЧ-реакцию, фотосинтез и другие сигнальные и метаболические процессы, что значительно повышает устойчивость растений к *P. infestans* в условиях недостатка почвенной влаги.

Полученные результаты исследований указывают, что механизм активации защитных систем растений картофеля бактериями рода *Bacillus* и сигнальными молекулами опосредуется накоплением пероксида водорода, модуля-

цией активности ферментов, регулирующих его уровень, и повышением экспрессии генов PR-белков. Развитие защитных реакций при водном стрессе приводит к значительным изменениям содержания отдельных белков, как у здоровых, так и у инфицированных растений. Выявленные различия в активации транскрипционной активности генов защитных белков под влиянием бактерий *B. subtilis* в сочетании с СК и ЖК позволяют предположить наличие дифференциальных путей формирования устойчивости к *P. infestans* у растений картофеля с их участием.

Работа выполнялась при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-516-00005, с использованием оборудования Центра коллективного пользования “Биомика” (Отделение биохимических исследований и нанобиотехнологии Регионального центра коллективного пользования “Агидель”) и оборудования Центра коллективного пользования “Протеом человека” (ИБМХ, Москва).

Список литературы

1. Драговоз И.В. Фитостимулирующая, антагонистическая активность и биологическая эффективность штамма *Bacillus subtilis* IBM В-7243. Микробиология и биотехнология. 2014. № 4. С. 77–87.
2. Verma P., Yadav A.N., Kumar V., Singh D.P., Saxena A.K. Beneficial Plant-Microbes Interactions: Biodiversity of Microbes from Diverse Extreme Environments and Its Impact for Crop Improvement. In: Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives. /Eds. D.P. Singh, H.B.Singh, R. Prabha. Singapore: Springer, 2017. P. 543.
3. Blake C., Nordgaard Christensen M., Kovacs A.T. Molecular Aspects of Plant Growth Promotion and Protection by *Bacillus subtilis*. MPMI. 2021. V. 34. No. 1. P. 15–25.
4. Kasim W.A., Gaafar R.M., Abou-Ali R.M. Effect of biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance in barley. Annals of Agricultural Science. 2016. V. 61. No. 2. P. 217–227.
5. Lee Y.P., Kim S.H., Bang J.W., Lee H.S., Kwak S.S., Kwon S.Y. Enhanced tolerance to oxidative stress in transgenic tobacco plants expressing three antioxidant enzymes in chloroplasts. Plant Cell Reports. 2017. V. 26. No. 5 P. 591–598.
6. Sorokan A., Cherepanova E., Burkhanova G., et al. Endophytic *Bacillus* spp. as a Prospective Biological Tool for Control of Viral Diseases and Non-vector *Leptinotarsa decemlineata* Say. in *Solanum tuberosum* L. Front. Microbiol. 2020. V. 11. 569457.
7. Максимов И.В. Стимулирующие рост растений бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам. Физиология растений. 2015. Т.62. № 6. С. 763-775.
8. Lastochkina O., Pusenkova L., Yuldashev R., et al. Effects of *Bacillus subtilis* on some physiological and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. (wheat) under salinity. Plant Physiology. Biochemistry. 2017. No. 121. P. 80-88.
9. Yarullina L.G., Kasimova R.I., Yarullina L.M., Akhatova A.R. Effect of salicylic and jasmonic acids on the content of hydrogen peroxide and transcriptional activity of the genes encoding defense proteins in wheat plants infected with *Tilletia caries* (DC.) TULL. Russian Journal of Plant Physiology. 2018. T. 65. No. 3. P. 412-418.
10. Malfanova N., Franzil L., Lugtenberg B., Chebotar V., Ongena M. Cyclic lipopeptide profile of the plant-beneficial endophytic bacterium *Bacillus subtilis* HC8. Arch. Microbiol. 2012. V. 194. No. 11. P. 893-899.

ПАТОГЕННОСТЬ И ФИТОТОКСИЧНОСТЬ ШТАММОВ *BIPOLARIS SOROKINIANA* (SACC.) SHOEM. НА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУРАХ

Жемчужина Н.С., Коломиец Т.М., Киселева М.И., Панкратова Л.Ф.

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии (ВНИИФ), Большие Вяземы, Московская область

Возбудитель корневой гнили и черного зародыша злаков, вызываемый гембиотрофным грибом *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. (anamorph *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur), широко распространен на территории возделывания зерновых культур в России [1]. Потери зерна от болезни оцениваются более чем в 30%. Распространение черного зародыша, которым поражается до 10 - 15% урожая, является одной из причин снижения всхожести семян. В отдельные годы корневая гниль бывает причиной массовой гибели посевов зерновых. [2]. Несмотря на то, что этот гриб может длительно сохраняться как сапрофит на растительных остатках и в почве, по характеру взаимоотношений его относят к факультативным паразитам, адаптированному к развитию на широком круге зерновых культур и диких злаков [3, 4].

Значительное влияние на развитие *B. sorokiniana* на посевах пшеницы, ячменя, кукурузы оказывают неблагоприятные погодные условия, низкая агротехника, несоблюдение севооборотов, наличие монокультуры [5]. Патогенность *B. sorokiniana*, способствующая инфекционному процессу на зерновых культурах, во многом зависит от метаболической активности гриба, или его фитотоксичности [6]. Возбудитель болезни, воздействуя на растение при помощи ферментов и токсинов, вызывает локальные разрушения клеток и приводит их содержимое в состояние, доступное для питания [7]. Токсины грибов нарушают обмен веществ растения и замедляют физиологические процессы, в конечном итоге, это приводит к понижению сопротивляемости болезни и усилению патологического процесса [8]. Продуцируемые патогеном микотоксины являются основным фактором развития болезни растений. В процессе колонизации пищевого субстрата *B. sorokiniana* вызывает образование таких метаболитов, как гельминтоспоров, гельминтоспорал, вицтоксин, цитокинин, концентрация которых зависит от внешних и внутренних факторов среды [9, 10].

Специфика реакции растений разных зерновых культур на штаммы *B. sorokiniana* может зависеть от патогенных и фитотоксичных свойств микромицета. Целью данных исследований являлось сравнительное изучение патогенной и фитотоксичной активности штаммов *B. sorokiniana* (Sacc.) Shoem., выделенных из пораженных корней ячменя, пшеницы, овса и кукурузы, собранных в различных районах возделывания зерновых культур в России в 2017-2021 годах.

Использованные в исследованиях 37 штаммов возбудителя *B. sorokiniana* поддерживаются в жизнеспособном состоянии в Государственной коллекции фитопатогенных микроорганизмов ВНИИФ (ГКФМ ВНИИФ). Это – 28 штаммов *B. sorokiniana*, выделенные из образцов ячменя, собранных в Центральном, Волго-Вятском, Северокавказском, Нижневолжском, Восточносибирском регионах в 2017-2019 годах, 7 штаммов - из образцов пшеницы, полученных в Уральском регионе в 2017 году и Северном Кавказе в 2020 году. В 2021 году изучены патогенные и фито-

токсичные свойства двух штаммов пораженных образцов кукурузы из Воронежской области и овса из Мордовии

Патогенные и токсичные свойства штаммов *B. sorokiniana* изучали, используя метод биопробы на семенах [11, 12, 13]. Патогенность споровых суспензий и фитотоксичность фильтратов культуральных жидкостей (ФКЖ) грибов тестировали на семенах пшеницы (с. Мироновская 808). О степени патогенности и токсичности штаммов судили по влиянию суспензий конидий и ФКЖ на всхожесть семян, развитие coleoptile и первичных корней пшеницы, однако наиболее информативным показателем считали длину корней. Определение степени патогенности и токсичности проводили на 5 сутки от начала прорастивания семян. Если длина проростков и корней (в мм) в опытном варианте составляла 0-30% от длины контроля, то это свидетельствовало о сильной патогенной (П) и о сильной токсичной (Т) активности гриба; 31-50% - умеренной патогенности (УП) и умеренной токсичности (УТ); 51-70% - слабой патогенности (СП) и слабой токсичности (СТ); 71-100% - о непатогенных (НП) и нетоксичных (НТ) свойствах изолятов. Длину ростков и первичных корней семян, пророщенных в воде, считали контролем и принимали за 100%. Статистическую обработку результатов проводили с помощью модифицированной программы, разработанной в Windows 98 на базе Excel.

В результате наблюдений за развитием проростков пшеницы, обработанных споровыми суспензиями и ФКЖ, определена разная степень патогенности и фитотоксичности у 37 штаммов *B. sorokiniana*. Одни из них угнетали развитие проростков, другие подобного действия не оказывали. В некоторых случаях на фоне обработки споровыми суспензиями гриба наблюдали стимуляцию роста растений.

Исследования показали, что фильтраты штаммов *B. sorokiniana* значительно сильнее влияют на угнетение всхожести и развития проростков зерновых культур, чем споровые суспензии гриба (табл. 1). Так, 28 штаммов *B. sorokiniana*, выделенных с ячменя, проявили более чем в 90% случаев сильное фитотоксичное воздействие на развитие тест-проростков независимо от их происхождения. В то же время, только 25,0% и 39,3% этих штаммов обладали высокой и умеренной угнетающей активностью суспензий спор на рост корней и стеблей проростков.

Установлено, что среди изолятов гриба *B. sorokiniana*, выделенных с пшеницы из Уральского региона преобладали штаммы со слабой патогенностью, но высокой фитотоксичностью к проросткам пшеницы.

Особенность штамма *B. sorokiniana* из популяции гриба Северного Кавказа проявилась в слабой токсичности к проросткам пшеницы.

2 штамма гриба, выделенные из пораженных образцов овса и кукурузы, обладающие высокой фитотоксичностью ФКЖ (17,8% и 25,8%, соответственно), характеризовались слабой патогенной активностью к проросткам пшеницы (40,1% и 56,2%, соответственно).

Таким образом, штаммы *V. sorokiniana*, полученные в результате обследования посевов ячменя, пшеницы, овса и кукурузы в отдельных районах России, имели значительные различия по патогенным свойствам: от непатогенных (74,4%-150,1%) до высоко патогенных (20,1%). По фитотоксичности во всех вариантах исследований фильтраты штаммов гриба оказывали сильное угнетающее воздействие на проростки тест культур пшеницы. Сильное токсическое действие ФКЖ *V. sorokiniana* на развитие первичных корней коррелирует с его ингибирующим воздействием на всхожесть и длину ростка растений. Специфическое влияние фильтратов культуральных жидкостей и спорых суспензий штаммов гриба на тест-проростки не зависела от растения-хозяина и района его возделывания.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что все проверенные штаммы *V. sorokiniana* независимо от происхождения обладали разной степенью патогенной и фитотоксичной активностью. Различия между штаммами гриба по патогенности зависят не только от физиологических свойств патогена, но и от количества инфекционного начала и продолжительности благоприятного периода для заражения.

Таблица 1 – Характеристика штаммов возбудителя *V. sorokiniana* по патогенности спорых суспензий и фитотоксичности фильтратов культуральных жидкостей штаммов, выделенных с пораженных растений зерновых культур в различных регионах РФ

Шифр штамма	Регион	Культура	Патогенность (споровая суспензия)	Токсичность (культуральная жидкость)
МО-14-2010	Центральный	Ячмень, 2018	УП	Т
МО-10-2010	Центральный	Ячмень, 2018	УП	Т
ВС-23л	Центральный	Ячмень, 2018	УП	Т
БР-14-7	Центральный	Ячмень, 2018	УП	Т
МО-16-06	Центральный	Ячмень, 2018	П	Т
МПС-06	Центральный	Ячмень, 2018	НП	Т
МЩ-4л	Центральный	Ячмень, 2018	НП	Т
МС-14к	Центральный	Ячмень, 2018	УП	Т
Тул-12-1-6	Центральный	Ячмень, 2018	УП	Т
Тул-12-1к-1	Центральный	Ячмень, 2018	УП	Т
Тул-12-1-2	Центральный	Ячмень, 2018	П	Т
Тул-12-1-3	Центральный	Ячмень, 2018	П	Т
Тул-12-1-4	Центральный	Ячмень, 2018	УП	Т
Вл-14-13	Центральный	Ячмень, 2018	П	УТ
ЦВ-3-14	Центральный	Ячмень, 2018	П	Т
ММ-10л	Волго-Вятский	Ячмень, 2018	УП	Т
СП-1-2	Волго-Вятский	Ячмень, 2018	УП	Т
КУ-57л	Волго-Вятский	Ячмень, 2018	НП	Т
МР-14-1	Волго-Вятский	Ячмень, 2018	НП	УТ
МРД-16-18-1	Волго-Вятский	Ячмень, 2018	НП	Т
МРК-16-13-1	Волго-Вятский	Ячмень, 2018	СП	Т
МРИ-16-6	Волго-Вятский	Ячмень, 2018	НП	Т
МРК-16-3-2	Волго-Вятский	Ячмень, 2018	НП	Т
МРЕ-16-5	Волго-Вятский	Ячмень, 2018	П	Т
Ru-10-08/2	Северо-Кавказский	Ячмень, 2019	НП	Т
ЛГ-31л	Северо-Западный	Ячмень, 2019	УП	Т
СМ-63л	Нижневолжский	Ячмень, 2017	СП	Т
КрД-81	Восточно-Сибирский	Ячмень, 2019	П	Т
ОА 1/1-24	Уральский	Пшеница, 2017	НП	Т
ОО 3/1-45	Уральский	Пшеница, 2017	НП	Т
С- 7з-242	Уральский	Пшеница, 2017	СП	Т
ОА 1/1-16	Уральский	Пшеница, 2017	СП	Т
ОО 3/1-112	Уральский	Пшеница, 2017	НП	Т
ОО 4/3-154	Уральский	Пшеница, 2017	СП	Т
Кр-19-6к-2	Северо-Кавказский	Пшеница, 2020	НП	СТ
ZM-B-1к	Централ-Черноземный	Кукуруза, 2021	СП	Т
МРЛ-16-9-1	Волго-Вятский	Овес, 2021	УП	Т

Примечание: НП – непатогенный; СП – слабопатогенный; УП/УТ – умеренно-патогенный/ умеренно-токсичный; П/Т – патогенный/ токсичный.

Список литературы

1. Торопова Е.Ю., Стецов Г.Я., Чулкина В.А. Эпифитотология / Под ред. А.А. Жученко и В.А. Чулкиной. Новосибирск, 2011. 707с.
2. Кириченко А.А., Торопова Е.Ю. Биологическое обоснование мониторинга, прогноза и контроля черноты зародыша яровой пшеницы в Новосибирской области // Сибирский вестник с.-х. науки, 2007. №8. С. 31–34.

3. Билай В.И. Микроорганизмы – возбудители болезней растений. Киев: Наук. думка, 1988. 552 с.
4. Горленко М.В. О некоторых направлениях эволюции фитопатогенных грибов // Микология и фитопатология, 1995. Т. 29(1). С. 87-94
5. Toropova E.Y., Kirichenko A.A., Stetsov G.Y., Suhomlinov V.Y. Soil Infections of Grain Crops with the Use of The Resource-saving Technologies in Western Siberia, Russia // Biosciences Biotechnology Research Asia, August, 2015. Vol. 12(2). P.1081-1093
6. Тарр С. Основы патологии растений / Пер. с англ. М.: Мир, 1975. 588 с
7. Чулкина В.А. Корневые гнили хлебных злаков в Сибири. Новосибирск: Наука, 1985. 190 с.
8. Дурынина Е.П., Великанов Л.Л., Чичева Т.В. Влияние токсинов *Helminthosporium sativum* Sacc. на поглощение растениями ячменя элементов минерального питания из раствора // Микология и фитопатология. 1982. Т. 16(6). С. 529-535
9. Великанов Л.Л. К вопросу о биологической роли токсических метаболитов *Helminthosporium sorokinianum* Sacc. / В кн.: Микробиологические процессы в почвах и урожайность сельскохозяйственных культур. Вильнюс, 1978. С. 69-71
10. Pringle R.B. Role of toxins in etiology root disease of wheat // *Canad. J. Bot.*, 1977. Vol. 55(13). P. 1801 – 1806
11. Парфенова Т.А., Алексеева Т.П. Токсическое влияние фильтрата культуральной жидкости грибов рода *Fusarium* на семена пшеницы // Микология и фитопатология. 1995. Т. 29(1). С. 78-82
12. Берестецкий О.А. Изучение фитотоксических свойств микроскопических грибов / Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. С. 321-333
13. Казакевич Г.Д., Киселева М.И., Овсянкина А.В. Модифицированный экспресс-метод лабораторной оценки устойчивости зерновых культур к возбудителям корневой гнили / Новые методы селекции и создание адаптивных сортов сельскохозяйственных культур: результаты и перспективы. Тез. докл. научн. сессии. Киров, 1998. С. 126-127

ПРОГНОЗ РАЗВИТИЯ НЕОАРЕАЛОВ ИНВАЗИВНЫХ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ С ПРИМЕНЕНИЕМ СРЕДЫ MAXENT

Звягинцев В.Б., Пинчук А.Г.

Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь

В настоящее время применяются различные подходы к оценке вероятности инвазий вредоносных организмов на новые территории. Эта работа важна, прежде всего, для детализации карантинных мероприятий, адаптации агроценозов и нативных экосистем к вторжению чужеродных организмов, среди которых доминируют грибы. Целью данных исследований является попытка использования компьютерного моделирования, основанного на принципе максимальной энтропии, для оценки потенциального географического ареала видов фитопатогенных грибов.

Модель MaxEnt основывается на анализе геоинформационных данных об известных местонахождениях определенного вида и экологических характеристиках этих местоположений, строит потенциальный ареал в сходных условиях опираясь на важность в распространении вида конкретных экологических факторов – предикторов. Среди моделей экологических ниш (ENM) алгоритм машинного обучения MaxEnt широко распространен при решении научных задач, используется в моделировании пригодности местообитаний из-за его точных возможностей прогнозирования и дополнительных описательных свойств. С целью отработки параметров модели были отобраны 2 группы видов фитопатогенных грибов из карантинного списка ЕАЭС – виды уже выявленные на территории Беларуси (*Hymenoscyphus fraxineus* Baral et al., *Phytophthora alni* Brasier, Kirk) и виды по экспертным оценкам потенциально способные к проникновению (*Phytophthora ramorum* Werres et al., *Melampsora medusae* Thüm.).

Модели вероятностного ареала строились на основании данных о распространении грибов, места находок которых

были взяты с интернет-ресурсов GBIF, EPPO и дополнены нашими собственными наблюдениями. Помимо координат точек присутствия вида для анализа распределения были использованы климатические данные и данные о рельефе (WorldClim), почвенные факторы (ISRIC SoilGrids), а также информация о растительном покрове региона (GlobCover).

Путем подбора предикторов, набор которых оказался уникальным для каждого вида фитопатогенов, и определенных настроек программы, удалось получить достаточно точную прорисовку естественных и инвазивных ареалов. На выходе, мы получаем карту желаемого масштаба (регион, страна, континент, мир) с потенциальным ареалом исследуемого вида, раскрашенным по шкале вероятности его развития в конкретных условиях от 0 до 100%. С различной вероятностью модель MaxEnt допускает возможность проникновения *Ph. ramorum*, *M. medusae*. в Восточную Европу включая территорию Беларуси.

На основе проведенных математических проверок и визуальной оценки полученного картографического материала сделан вывод о высокой точности используемого метода компьютерного моделирования, что подтверждается литературными данными и нашими собственными исследованиями распространенности изучаемых инвазивных грибов. Считаем модель MaxEnt вполне перспективным инструментом для решения задач в области отслеживания ареалов инвазивных фитопатогенных грибов.

РОЛЬ АФИЛЛОФОРОВЫХ ГРИБОВ В ДЕКОМПОЗИЦИИ ДРЕВЕСИНЫ

Некляев С.Э., Серая Л.Г., Ларина Г.Е.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии»
р.п. Большие Вяземы, Одинцовский район, Московская область

Введение. Процесс ферментивной деструкции древесины происходит под воздействием дереворазрушающих грибов, которые разрушают древесину, как процессе борьбы за освоение субстрата, так и при неконкурентном его освоении [1]. Смену сукцессий ксилотрофии можно проследить по изменению поселения на субстрате доминантных видов и характеру их воздействия на древесину. Ход ксилотрофии как освоение питательного субстрата сапроксильными организмами определяется особенностями строения древесины различных пород. Разрушается по коррозионному типу ядровая древесина (дуб, ясень, платан, сосна, лиственница, кедр, яблоня, вишня, слива, абрикос и др.); по деструктивному типу спелодревесная древесина (ель, пихта, осина, бук, груша и др.); по коррозионно-деструктивному типу заболонная древесина (береза, клен, ольха, липа).

Традиционные методы изучения стадий разрушения древесины не отражают многофакторности процесса биодеструкции, происходящей под воздействием сапроксильных организмов. В процессе ксилотрофии формируются комплексы сапроксильных ксилотрофов, формирующие сукцессии, в связи с чем целью исследования стало изучение роли афиллофоровых (или афиллофороидных) грибов

в декомпозиции древесины полезащитных насаждений в Нечерноземной зоне Европейской части России.

Методы и объекты. Для изучения процесса биодеструкции в период 2013-2021 гг. было проведено исследование 237 модельных деревьев в насаждениях, выполняющих функции защиты агроценозов от неблагоприятных погодных факторов на территории Московской области. Для каждого модельного дерева производили замеры влажности древесины (ГОСТ 18610-82), а также отбор отрубков для определения стадии и типа разложения древесины. В отобранных образцах измеряли объем гнили. Проведена идентификация видовой принадлежности по морфологическому строению с использованием специализированных определителей [2,3,4].

Результаты и обсуждение. Многолетние исследования модельных хвойных деревьев в условиях Московской области показали, что в течение сезона средняя влажность древесины деревьев с симптомами поражения афиллофоровыми грибами равнялась для сосны $32,4 \pm 21,0\%$ и ели $27,7 \pm 16,3\%$ (таблица 1). Отмечено, что у модельных деревьев сосны объем гнили и наличие плодовых тел грибов были выше, по сравнению с модельными деревьями ели, что связано с особенностями строения древесины данных пород.

Таблица 1 – Характеристика повреждений хвойных растений, нанесенных ксилотрофными базидиомицетами (среднее \pm ST)

Название породы	Выборка (n)	Доля гнили, %	Влажность древесины, %	Плодовые тела афиллофоровых грибов, шт. на модельный отрубеk
сосна	92	26,8 \pm 23,1	32,4 \pm 21,0	*15,1 \pm 12,8
ель	64	20,7 \pm 17,8	27,7 \pm 16,3	**9,8 \pm 1,2

Примечание: **Stereum*, *Trichaptum* *Gloeophyllum*; ** *Fomitopsis*, *Trametes*, *Gloeophyllum*

Нашими многолетними опытами показано, что ксилотрофия хвойных пород включает семь сукцессионных стадий, что подтверждается работами других исследователей [4]. Нулевая (или начальная) стадия характеризуется необратимым ослаблением дерева и началом его усыхания. В этом случае помимо уже паразитирующих на дереве грибов, происходит проникновение под кору спор деревокрашивающих грибов вместе с массовым поселением короедов.

На стадии 1 в ходах короедов происходит развитие деревокрашивающих грибов. В период развития имаго ходы заполняются плодовыми телами и идет активная споруляция, что обеспечивает распространение спор на другой свежий субстрат, т.к. легкодоступные простые сахара оказываются потребленными деревокрашивающими грибами. Происходит переход биотрофов от паразитизма к сапротрофному типу питания. В середине вегетационного сезона древесину заселяют настоящие ксилофаги. Вместе с ними происходит и проникновение спор афиллофоровых грибов из родов *Fomitopsis*, *Stereum*, *Trametes*, *Trichaptum*, *Phellinus*. В личиночных ходах прорастают споры. Формируется первичный мицелий, начинается окисление среды.

На стадии 2 облигатные паразиты или завершают свой жизненный цикл, или переходят существованию в качестве факультативных сапротрофов. Сапротрофный тип

разложения может быть определен не ранее перехода древесины ствола ели на 2-ю стадию разложения, т.к. в этот период происходит активное заселение афиллофоровыми грибами из родов *Fomitopsis*, *Stereum*, *Trametes*, *Trichaptum*, *Phellinus*, *Onnia*, *Postia*, *Gloeophyllum*. Доминантные виды сохраняют ведущее положение на 2-4 фазе разложения и переход от стадии к стадии возможно проследить по освоению ими субстрата. Одновременно развитие мицелия в тканях древесины различается по развитию гнили: на стадии 2 активно развитие красной гнили в древесине с сохранением ее физико-химических свойств; стадии 3 формируется бурая сухая твердая гниль; стадии 4 – мягкая бурая гниль и стадии 5 доминируют подстилочные сапрофиты из рода *Oligoporus*, *Antrodia*, *Rhodonina*, *Corirolellus*, *Junghuhnia*.

В процессе ксилотрофии ели влажность древесины на первых стадиях падает с 40 % до 22-24%, но к стадии 5 поднимается и достигает в среднем 53% (таблица 2). Это отражает снижение поступления воды от корневой системы и одновременное усыхание растения в местах повреждения. Рост влажности наблюдается с началом заселения древесины личинками усачей и рогахостов. Это особенно четко прослеживается на примере сосны, где от стадии 1 до ста-

дии 5 идет постепенное увеличение влажности древесины – от 15-27 % до 40-80%.

Таблица 2 – Влажность древесины (%) хвойных растений на разных стадиях ксилолиза

Стадия	ель		сосна	
	интервал (мин-мах)	среднее	интервал (мин-мах)	среднее
1	23-87	40,0	7-28	15,3
2	17-36	22,0	12-90	27,7
3	8-44	24,0	7-80	30,8
4	27-74	23,2	12-83	34,4
5	16-97	53,4	17-94	39,7
6	---	---	64-96	79,9

На стадии 1 поселение короедов обеспечивает освоение верхних слоев заболони древоокрашивающими грибами, которые активно осваивают простые сахара в клетках последних годичных слоев. По причине прорастания спор и образования первичного мицелия основными грибами, образующими гниль, падение дерева возможно только на второй год. Вылет насекомых создает условия для благополучного прорастания спор. Интенсивное образование вторичного мицелия происходит после достаточного окисления древесины и достижения ею влажности 10-12%. Афиллофоровые грибы последовательно осваивают субстрат, образуя между рядами годичных слоев пленочный мицелий. Достигнув границ субстрата, ограниченного поступлением воды и кислорода, гриб преодолевает бактериальное кольцо поверхностных слоев древесины и формирует начальное плодовое тело, в результате начинается споруляция. Собственно, процесс плодоношения требует значительного расхода питательных веществ и энергии, что косвенно подтверждает увеличение влажности субстрата (древесины) в результате гидролизе глюкозы как основной составляющей целлюлозы. На границе роста мицелия (или непосредственного потребления грибом целлюлозы) влажность достигает 46-99%, постепенно уменьшаясь к внешней поверхности ствола. Данная физиологическая зависимость хорошо прослеживается на стадии 3-4. Далее влажность снова нарастает под воздействием грибов из родов *Rhodonina*, *Antrodia*, *Postia*, которые активно осваивают субстрат древесины после ее соприкосновения с землей и разрушения сучьев 1-го порядка. После полного освоения субстрата плодоношение заканчивается. Далее субстрат осваивают почвенные сапротрофы, которые лучше приспособлены к измененной афиллофоровыми грибами среде.

Данные корреляционного анализа показали в лесных насаждениях Центрального региона РФ для *Picea abies* (ель обыкновенная или ель европейская) зависимость между количеством плодовых тел афиллофоровых грибов и долей гнилей древесины (КК=0,43-0,46), для *Pinus sylvestris* (сосна обыкновенная) между влажностью древесины и долей гнилей.

Заключение. Процессы ксилолиза древесины является комплексной динамической системы разрушения древесины под действием сапротрофных организмов, ассоциированных с древесиной как питательным субстратом. Основной вклад в преобразование биологических полимеров древесины в комплекс веществ пригодных для последующего вовлечения в геобиоценоз вносят грибы, в частности, афиллофороидные дереворазрушающие грибы. На разных стадиях разрушения древесины принимают участие определенные таксоны, что характеризует последовательную сменяемость сукцессионных рядов в условиях смены сапротрофных организмов в ходе изменения качественных характеристик субстрата. При этом на каждой стадии могут проявляться все формы взаимодействия между участниками ксилолиза.

Список литературы. [1] Стороженко В.Г. Гнилевые фауны коренных лесов Русской равнины. - М.: Изд-во ВНИИЛМ, 2002. 156 с. [2] Ниемея Т. Трутовые грибы Финляндии и прилегающей территории России // *Norrinia* 8 2001 120 с. [3] Стороженко В.Г., Крутов В.И., Руоколайнен А.В., Коткова В.М., Бондарцева М.А. Атлас-определитель дереворазрушающих грибов Русской равнины. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014; 198 с. [4] Zabel R.A., Morrell J.J., Robinson S. *Wood Microbiology. Decay and Its Prevention*. London: ELSEVIER Academic Press, 2020; 556 P.

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Current Mycology in Russia

Том 9

Volume 9

Выпуск 5.

Грибы – биодеструкторы

Issue 5.

Fungal biodegradation

Глава 9.

Грибы – биодеструкторы

doi: 10.14427/cmr.2022.ix.09

Chapter 9.

Fungal biodegradation

doi: 10.14427/cmr.2022.ix.09

Содержание выпуска 5

Глава 9. Грибы – биодеструкторы

МИКРООРГАНИЗМЫ-ДЕСТРУКТОРЫ СМАЗОЧНО-ОХЛАЖДАЮЩИХ ЖИДКОСТЕЙ: БИОРАЗНООБРАЗИЕ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К БИОЦИДАМ Е.М. Чудинова, Д.А. Санджиева, А.С. Еланский, С.Н. Еланский, А.Г. Дедов	341
БИОДЕСТРУКТИВНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ ГОРОДА ЧАРЕНЦАВАН (РЕСПУБЛИКА АРМЕНИЯ) Элоян И.М., Погосян А.В., Адамян Р.Г., Нанагюлян С.Г.	343
ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНГИЦИДНЫХ СВОЙСТВ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ХИТОЗАНА ИЗ <i>ILLUCENS</i> ДЛЯ ЗАЩИТЫ ОБЪЕКТОВ КУЛЬТУРНОГО НАСЛЕДИЯ В ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕИ Ермолюк А.А., Авданина Д.А., Хайрова А.Ш., Лопатин С.А., Жгун А.А.	344
СТОЙКОСТЬ К ГРИБНОЙ КОРРОЗИИ GA2O3-СОДЕРЖАЩЕГО СТЕКЛА И СТЕКЛОКЕРАМИКИ НА ЕГО ОСНОВЕ Иванушкина Н.Е., Голубев Н.В., Игнатъева Е.С., Голубев В.И.	346
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МИКРОМИЦЕТОВ УМЕРЕННОГО И УМЕРЕННО ТЁПЛОГО КЛИМАТА НА СВОЙСТВА ЛАКОКРАСОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ Кривушина А.А., Старцев В.О., Коган А.М.	347
НОВЫЙ ОБЪЕКТ БИОДЕСТРУКЦИИ: БЕЛЫЙ ФОСФОР А.З. Миндубаев, Э.В. Бабынин, С.Т. Минзанова	349
ГРИБЫ-БИОДЕСТРУКТОРЫ РАЗЛИЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ Москалев А.В.	350
ОЦЕНКА МИКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОМЕЩЕНИЙ ХРАНЕНИЯ ДОКУМЕНТОВ НАЦИОНАЛЬНОГО АРХИВА РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН Надеева Г. В., Ионова Н.Э.	351
ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА РОСТ МИЦЕЛИЯ ГРИБА <i>SERPULA LACRYMANS</i> Полянская А. С., Пучкова Т. А.	353
МИКРОМИЦЕТЫ ШТУКАТУРКИ И БЕЛОГО КАМНЯ В ИНТЕРЬЕРАХ ПАМЯТНИКОВ КУЛЬТУРЫ Понизовская В.Б., Антропова А.Б., Биланенко Е.Н., Благовещенская Е.Ю., Ребрикова Н.Л. , Мокеева В.Л.	354
ФУНГИЦИДНЫЕ ПРЕПАРАТЫ, ДЕПОНИРОВАННЫЕ В БИОРАЗРУШАЕМУЮ ПОЛИМЕРНУЮ ОСНОВУ, ДЛЯ БОРЬБЫ С ФИТОПАТОГЕНАМИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР Прудникова С. В., Стрельцова Н. В.	357
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОИЗВЕДЕНИЙ ИСКУССТВА, ПОВРЕЖДЕННЫХ ИЛИ ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ПОВРЕЖДЕННЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИМИ ГРИБАМИ, РАЗНЫМИ МЕТОДАМИ: КУЛЬТУРАЛЬНЫМИ, МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИМИ, БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМ. НОВЫЕ ДАННЫЕ. Н.Л. Ребрикова	358
ГРИБЫ В ПОВЕРХНОСТНЫХ НАСЛОЕНИЯХ НА ПАМЯТНИКАХ ИЗ КАМНЯ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ Сазанова К.В., Зеленская М.С., Бобир С.Ю., Шаварда А.Л., Власов Д.Ю.	360
БИОДЕСТРУКЦИЯ ПОЛИМЕРНЫХ ВОЛОКНИСТЫХ МАТЕРИАЛОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ Тертышная Ю.В., Годяева М.М., Попов А.А.	361
МИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПЫЛЕВИДНЫХ НАЛЕТОВ НА АРХИВНЫХ ДОКУМЕНТАХ И СРЕДСТВАХ АРХИВНОГО ХРАНЕНИЯ Тригубович А.М. Гончарова И.А.	363
ФЕРМЕНТЫ ЛИГНИНОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ФИТОПАТОГЕНА <i>MICRODOCHIUM NIVALE</i> Горшков В.Ю., Мещеров А.Р., Ветчинкина Е.П.	366
МИКРОМИЦЕТЫ – ДЕСТРУКТОРЫ ПОЛИСИЛОКСАНОВ Яковлева Г., Данилаев М., Ли Х.К., Курди У., Ильинская О.	369
БИОТРАНСФОРМАЦИЯ СТЕРОИДОВ ГРИБАМИ-ДЕСТРУКТОРАМИ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ, ИЗОЛИРОВАННЫМИ В ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕЕ Жгун А.А., Потапов М.П., Авданина Д.А., Карпова Н.В., Ядерец В.В., Джавахиya В.В., Кардонский Д.А.	370

Глава 9.

Грибы – биодеструкторы

doi: 10.14427/cmr.2022.ix.09

МИКРООРГАНИЗМЫ-ДЕСТРУКТОРЫ СМАЗОЧНО-ОХЛАЖДАЮЩИХ ЖИДКОСТЕЙ: БИОРАЗНООБРАЗИЕ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К БИОЦИДАМ

Е.М. Чудинова¹, Д.А. Санджиева², А.С. Еланский¹, С.Н. Еланский^{1,3}, А.Г. Дедов²

¹Российский университет дружбы народов, Москва

²Российский государственный университет нефти и газа (НИУ) имени И.М. Губкина, Москва

³Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Смазочно-охлаждающие жидкости (СОЖ) позволяют снизить нагревание, трансформацию и трение в процессе металлообработки, что повышает качество обработки и снижает изнашиваемость оборудования. Составы СОЖ различаются, однако в основе большинства из них лежит минеральное или растительное масло (от 3 до 15 %), присадки, повышающие стабильность СОЖ, ингибиторы коррозии, пеногасители, биоциды и другие вещества. Одной из главных причин в сокращении сроков эксплуатации СОЖ является загрязнение СОЖ микроорганизмами. Заражение может происходить при добавлении в качестве растворителя загрязненной воды или из аэрозоля воздуха. В ходе жизнедеятельности микроорганизмов изменяется состав СОЖ, понижается значение pH, увеличиваются коррозионные свойства СОЖ. Для борьбы с микроорганизмами в состав СОЖ часто включают биоциды, однако, в результате высокой степени приспособляемости микроорганизмов к биоцидам, эффективность препаратов снижается или полностью исчезает. Так, при исследовании отработанных СОЖ на заводах Польши бактерии были как в СОЖ, не содержащих биоцидные присадки, так и в СОЖ с биоцидами, при этом количество бактерий в обоих вариантах практически не отличалось [1]. Часто микроорганизмы образуют биопленки в трубопроводах и резервуарах охлаждающей жидкости внутри оборудования и на его поверхности [2], что увеличивает их сопротивляемость биоцидам и затрудняет удаление механическим способом при замене СОЖ. Среди микроорганизмов СОЖ встречаются аллергенные, токсигенные и потенциально патогенные для человека виды. Микробиота СОЖ может сильно различаться в зависимости от региона использования, качества применяемой для разведения воды, входящего в состав биоцида. В представленной работе изучается биообразие грибов и бактерий, развивающихся в СОЖ, исследуются их устойчивость к биоцидам

Материалы и методы

Биообразие микроорганизмов изучалось методом выделения чистых культур микроорганизмов из отработанных СОЖ, полученных на предприятиях Московской, Волгоградской, Липецкой, Ярославской областей и Республики Татарстан. Всего было исследовано 10 образцов СОЖ разного состава: 9 водосмешиваемых и 1 - полусинтетический. В лабораторных условиях определяли видовой состав микроорганизмов по культурально-морфологическим и

молекулярным признакам. Для более полного выявления микробиоты СОЖ использовали NGS-секвенирование [3]. Устойчивость к биоцидам оценивали на агаризованной среде с добавлением разных концентраций тестируемых биоцидов (Вазин-50, Аргитос, Актисайд MV-14) [4].

Результаты и обсуждение

Во всех 10 образцах изученных отработанных СОЖ были обнаружены микроорганизмы, в 2 были обнаружены только бактерии, в 2 только грибы, в 6 и грибы и бактерии одновременно. В исходных концентратах микроорганизмы отсутствовали. Методом выделения микроорганизмов в чистые культуры в каждой пробе было обнаружено от 1 до 6 доминирующих видов. Из всех проб было выделено в чистые культуры 12 видов бактерий: *Shewanella putrefaciens*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophila*, *Lysinibacillus sp.*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus simulans*, *Delftia acidovorans*, *Trabulsiella sp.*, *Brevundimonas mediterranea* и 10 таксономических групп грибов: *Fusarium oxysporum* Schltdl., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. (= *Neocosmospora solani* (Mart.) L. Lombard et Crous), *Cladosporium sp.*, *Penicillium chrysogenum* Thom, *Yarrowia lipolytica* (Wick., Kurtzman et Herman) Van der Walt et Arx., *Cadophora sp.*, *Pleurostoma richardsiae*, *Yarrowia lipolytica*, *Candida parapsilosis*, *Candida sp.*

С помощью метагеномного профилирования удалось выявить существенно большее разнообразие бактерий и грибов в анализируемых образцах (таб. 1). По-видимому, в процессе эксплуатации СОЖ происходит сукцессия микроорганизмов, метагеномное исследование позволяет выявить утратившие жизнеспособность анаэробные микроорганизмы (выделение микроорганизмов мы проводили в аэробных условиях). Разнообразие микроорганизмов СОЖ ниже по сравнению с сообществами почвы, ризопланы, филлопаны. В агрессивной среде СОЖ могут развиваться ограниченное количество видов. Грибы, принадлежащие к 6 родам (*Saccharomyces*, *Fusarium*, *Malassezia*, *Bjerkandera*, *Penicillium*, *Alternaria*) были обнаружены во всех протестированных образцах, *Yarrowia* и *Cryptococcus* - только в четырех.

Бактериальное сообщество СОЖ более разнообразно по сравнению с грибным. Во всех пробах были обнаружены виды, принадлежащие к родам *Desulfovibrio*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*.

Таблица 1. Разнообразие микроорганизмов в образцах СОЖ.

Номер пробы	Бактерии			Грибы		
	Количество OTU, определенных с помощью метагеномного профилирования	Индекс Шеннона*	Количество видов, выделенных в чистую культуру	Количество OTU, определенных с помощью метагеномного профилирования	Индекс Шеннона	Количество видов, выделенных в чистую культуру
3	—*	—	-	9	0,53	2
13	48	1,86	1	49	1,24	3
14	41	2,82	3	12	2,63	1
28	87	2,93	4	9	0,16	-
29	70	2,3	4	12	0,99	2

* - индекс Шеннона показывает разнообразие и выравненность в структуре сообщества.

Для сдерживания развития микробиологической контаминации и, следовательно, для продления сроков эксплуатации СОЖ, применяют биоцидные присадки. При длительном использовании одного вида биоцида у микроорганизмов может выработаться устойчивость к нему, поэтому для успешного выбора адекватного биоцида необходимо проверять биоцидную восприимчивость. Мы протестировали восприимчивость выделенных микроорганизмов к некоторым широко распространенным биоцидным присадкам: Вазин-50 (формальдегид высвобождающий препарат, гексагидро-1,3,5-трис (2-гидроксиэтил)-S-триазин (ГТТ), Аргитос (наночастицы серебра), Актисайд MV-14 (5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-он (ХМИТ) в сочетании с метилизотиазолинон (МИТ)).

Препарат Актисайд MV-14 оказывал биоцидное действие в минимальной рекомендованной концентрации на все тестируемые штаммы бактерий и дрожжевых грибов. По отношению к мицелиальным грибам Актисайд MV-14 обладал биостатическим эффектом. Препарат Вазин-50

был эффективен в отношении всех исследуемых штаммов бактерий. В концентрации, рекомендованной производителем, этот биоцид замедлял рост грибных микроорганизмов. Препарат Аргитос в концентрации 75 ppm был летален для бактерий и оказывал ингибирующее влияние на рост грибных микроорганизмов. Более подробная информация приведена в работе [4].

Мы оценили способность выделенных организмов развиваться в 5 СОЖ на масляной основе и в 1 полусинтетической СОЖ. Разные штаммы грибов отличались по способности расти в разных СОЖах. Самыми активными деструкторами оказались мицелиальные грибы *F. solani*, показавшие рост на всех типах СОЖ. Штаммы *F. oxysporum*, представленные мицелиальными формами, также хорошо растут на всех видах СОЖ, тогда как штамм *F. oxysporum*, представленный дрожжевой формой, не смог вырасти на 2 видах СОЖ. Все проверенные штаммы бактерий могли развиваться только на двух видах СОЖ. Штамм *Penicillium chrysogenum* вырос на 3 вариантах водосмешиваемых СОЖ.

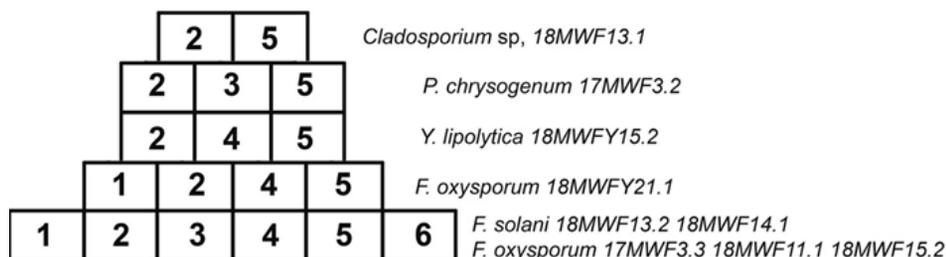


Рис.1. Тестирование способности грибов расти на разных образцах СОЖ (1-5 СОЖ - водосмешиваемые СОЖ на масляной основе; 6 – полусинтетическая СОЖ).

Работа выполнена при поддержке Программы научных грантов РУДН (тема 202193-2-174).

Список литературы

1. Trafny, E.A., Lewandowski, R., Kozłowska, K., Zawistowska-Marciniak, I., Stepinska, M., 2015. Microbial contamination and biofilms on machines of metal industry using metalworking fluids with or without biocides.

Int. Biodeterior. Biodegradation 99, 31-38. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.12.015>

2. Trafny, E.A., 2013. Microorganisms in metalworking fluids: current issues in research and management. Int J Occup. Med. Environ. Health 26, 4-15. <https://doi.org/10.2478/S13382-013-0075-5>.

3. Elansky, S. N., Chudinova, E. M., Elansky, A. S., Kah, M. O., Sandzhieva, D. A., Mukabenova, B. A., and Dedov,

- A. G. (2022). Microorganisms in spent water-miscible metalworking fluids as a resource of strains for their disposal. *Journal of Cleaner Production*, 350:131438. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131438>
4. Sandzhieva, D.A., Chudinova, E.M., Elansky, A.S., Elansky, S.N., Udovichenko, A.N., Burova, A.A., Kirpichnikov, M.P., Dedov, A.G., 2020. Development of a Rapid Method for Monitoring Biodeterioration of Petroleum Products

and Technical Fluids. *Petroleum Chemistry*. 61, 107–113. <https://doi.org/10.1134/S0965544121010138>

БИОДЕСТРУКТИВНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ ГОРОДА ЧАРЕНЦАВАН (РЕСПУБЛИКА АРМЕНИЯ)

Элоян И.М., Погосян А.В., Адамян Р.Г., Нанагюлян С.Г.

Ереванский государственный университет, кафедра ботаники и микологии биологического факультета. Ереван, Республика Армения

Биодеструкция и биоповреждения различных материалов микромицетами являются одной из основных проблем человечества. В настоящее время чрезвычайно важное значение имеют защита помещений от патогенных микромицетов, запыряющих воздух и повреждающих различного рода сооружения. Нарушение технологии строительства с применением негрибостойких материалов, несоответствующих стандарту качества, неправильная вентиляционная система зданий и ряд факторов могут стать причиной активного заселения грибами-биодеструкторами.

В условиях Армении в результате ряда нарушений, связанных с отопительными, водопроводными системами и строительными работами, создались благоприятные условия для роста и развития микромицетов-деструкторов, повреждающих здания и запыряющих воздух. Создавшаяся ситуация способствует расширению ареала агрессивных популяций микродеструкторов [1].

Проблема биоповреждений и борьба с биодеструкторами в жилых помещениях занимает главенствующее положение в сфере общественного здравоохранения. Микромицеты - представители родов *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, развивающиеся на стенах и других органических субстратах могут стать причиной ряда аллергических заболеваний [2].

Целью настоящей работы явилось исследование ряда квартир 9 этажного панельного здания города Чаренцаван (Республика Армения). Стены и потолок обследованных помещений были колонизированы грибами, вызывающими деструкцию различных субстратов (побелка, обои). В результате микологических исследований выявлен и идентифицирован 21 вид микодеструкторов, значительное число которых являются потенциально патогенными для человека.

Выделение и определение микодеструкторов проводились общепринятыми микологическими методами в научно-исследовательской лаборатории экспериментальной микологии при кафедре ботаники и микологии биологического факультета Ереванского государственного университета. Классификация видов дана по современной систематике [3, 4].

С заплесневелой побелки одной из исследуемых квартир были выявлены и идентифицированы ряд видов микромицетов: *Aspergillus awamori* Nakazawa, *A. flavus* Link, *Penicillium verrucosum* Dierckx, *Stemphylium ilicis* Tengwall,

Rhizoctonia solani J.G. Kühn и *Alternaria alternata* (Fries) Keissler. Присутствие постоянной влажности в ванной комнате исследуемой очередной квартиры, способствовало образованию плесени на потолке. В результате с потолка данного помещения были выделены виды грибов - *Aspergillus versicolor* (Vuillemin) Tiraboschi, *A. niger* Tieghem, *Cladosporium herbarum* (Persoon) Link, *C. lignicola* Link и *Penicillium cyclopium* Westling. Протечка кровли привела к образованию плесени на потолке и стене квартиры последнего этажа. В результате выявлены микодеструкторы *Aspergillus niger*, *Penicillium lanosum* Westling, *Cladosporium herbarum*, *Stemphylium botryosum* Wallroth, и *Alternaria humicola* var. *gossypii* Forsteneichner, а со стен и потолка прихожей - выделены *Verticillium alboatrum* Reinke & Berthold, *Penicillium casei* W. Staub и *P. viridicatum* Westling, *Rhizopus stolonifer* (Ehrenberg) Vuillemin виды микромицетов.

Здание было спроектировано с расчетом на установку обычных деревянных оконных блоков и не рассчитано на применение герметических стеклоблоков, что привело к плохой циркуляции воздуха и под окнами время от времени образовывались очаги плесени. Тонкие стены и плохая герметизация окон, а также наличие в комнате аквариума с рыбами создавали высокую влажность в данной квартире, что стало причиной образования плесени на стенах (рис. 1). В результате идентификации пораженных участков обнаружены следующие виды микодеструкторов: *Cladosporium cladosporioides* (Fresenius) G.A. de Vries, *Penicillium cyclopium*, *Aspergillus versicolor* и *A. ochraceus* K. Wilhelm. Прорыв водосточной трубы, затопивший очередную исследуемую квартиру, привел к негативным последствиям, в результате которого на стенах, покрытых обоями, образовались непросыхающие влажные пятна, впоследствии покрывшиеся плесенью. С обоев были выделены и идентифицированы виды грибов: *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*, *Stemphylium botryosum*, *Chaetomium homopilatum* Omvik, *Penicillium verrucosum*. Следует отметить, что все виды микромицетов, обнаруженные на обоях, кроме вида *Chaetomium homopilatum*, были обнаружены также на образцах с побелки.

Деструктивная деятельность микодеструкторов, заселяющих обои и побелку, вызвана не отдельными видами, а представлена их сообществами, причем на идентичных материалах, в различных квартирах ряд видов повторяются.

Таким образом, из общего числа выделенных микромицетов, 16 видов выявлены с побелки потолков и стен, большинство которых являются потенциально патогенными.

Наиболее распространенными патогенными являются *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Rhizopus stolonifer*, *Stemphylium botryosum* и др. [5].

Рис. 1. Заплесневшие побелка, обои и сообщество микодеструкторов



По нашим данным, среди агентов биоповреждений, наибольшей повреждающей активностью различных строительных материалов отмечены виды родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Verticillium*, что подтверждается данными приведенными А.В. Кантеровой и Г.И. Новиком [6].

Так как данные виды микромицетов представляют потенциальную опасность для здоровья людей, особенно со сниженным иммунитетом, а также относящихся к группам риска, в частности детей дошкольного возраста, необходимо вовремя предотвращать развитие биоповреждений, проводить тщательную очистку и просушку помещений, обеззараживая очаги плесневых поражений, с целью улучшения жизненного потенциала.

Список литературы

1. Абрамян Дж.Г., Нанагюлян С.Г., Элоян И.М., Шахазизян И.В., Оганесян Е.Х. Видовой состав микобиоты жилых помещений, объектов различного назначения и негативные последствия, вызываемые ими. Успехи мед. микологии. Москва, т. IX, 2, 2007, с.30-31.

2. Лугаускас А. Яскелявичюс Б. Микологическое состояние жилых помещений Вильнюса. Микология и фитопатология. Санкт-Петербург, т. 43, вып. 3, 2009, с. 207-214.

3. <https://www.mycobank.org/>

4. Нанагюлян С.Г., Элоян И.М., Шахазизян И.В., Оганесян Е.Х. Микобиота воздуха государственного архива кинематографии Армении. Сов. микология в России, Москва: Национальная академия микологии, т. 4, 2015, с. 239-241.

5. Марфенина О.Е., Фомичева Г.М. Потенциально патогенные мицелиальные грибы в среде обитания человека. Микология сегодня, Москва: Национальная академия микологии, т. 1, 2007, с. 235-266.

6. Кантерова А.В., Новик Г. И. Микромицеты-агенты биоповреждений из фонда белорусской коллекции микроорганизмов. Успехи мед. микологии. Москва, т. XV, 6, 2016, с. 67-70.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНГИЦИДНЫХ СВОЙСТВ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ХИТОЗАНА ИЗ HERMETIA ILLUCENS ДЛЯ ЗАЩИТЫ ОБЪЕКТОВ КУЛЬТУРНОГО НАСЛЕДИЯ В ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕИ

Ермолюк А.А.^{1,2}, Авданина Д.А.², Хайрова А.Ш.², Лопатин С.А.², Жгун А.А.²

¹РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, Москва

²ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт Биоинженерии, Москва

Многие объекты культурного наследия подвержены биодеструкции, поскольку в своем составе содержат питательные органические материалы. В частности, произведения темперной живописи являются хорошим субстратом для роста микроорганизмов, где в качестве связующих для пигментов используются богатые питательными веществами яичный желток и белок. В нашей работе изучили эффективность ингибирования грибов-деструкторов темперной живописи новым хитозаном, выделенным из личинок насекомого *Hermetia illucens* (муха Чёрная львинка).

Количество соединений, которые используют в качестве антисептиков для защиты живописных материалов, в частности произведений масляной живописи на холсте и темперной живописи, в последнее время значительно

сократилось. Это произошло из-за отказа от применения ранее использовавшихся препаратов, оказавшихся высокотоксичными [1–4]. В результате в арсенале реставратора остался довольно узкий круг используемых антисептиков, что существенно сокращает возможность эффективной борьбы против микроорганизмов-деструкторов живописных материалов, важнейшими из которых являются плесневые грибы. В этой связи одним из перспективных веществ видится экологически чистый хитозан, ранее показавший эффективное ингибирование грибов-деструкторов темперной живописи, изолированным в Государственной Третьяковской галерее (ГТГ), Москва [5,6]. Для этого использовали хитозан, выделенный из краба, являющийся традиционным сырьем для получения хитозана. Так-

же известно, что хитозаны, изолированные из различных источников биологического происхождения, могут иметь различные свойства [7]. В частности недавно показали, что низкомолекулярный хитозан, выделенный из *H. illucens* обладает сопоставимыми, а в ряде случаев (при сравнении метаболической активности) лучшими антимикозными характеристиками по сравнению с крабовым хитозаном [7].

В связи с этим в нашей работе изучили противогрибковую активность низкомолекулярных хитозанов с молекулярной массой (ММ) 33, 36, 39, 53 и 88 кДа из *H. illucens* по сравнению с 25 и 47 кДа хитозанами, полученными из краба. Низкомолекулярные хитозаны из *H. illucens* получали из хитозана с ММ 570 кДа и СДА 91% с использованием азотной кислоты различной концентрации – 3,3, 6,6, 9,9, 13,1 и 16,4%, как описано ранее [8]. По мере увеличения концентрации азотной кислоты степень дезацетилирования (СДА) возрастала – 92, 93, 95, 97, 98%, соответственно. К 0,9 г хитозана с ММ 570 кДа, полученного из личинок *H. illucens*, добавляли 20 мл азотной кислоты до конечных концентраций 3,3, 6,6, 9,9, 13,1 и 16,4%. Реакционную смесь перемешивали 7 ч, 70°C, инкубировали в течение ночи, при комнатной температуре. Осадок фильтровали и суспендировали в 40 мл дистиллированной воды. Далее суспензию нагревали на водяной бане до полного растворения (70–80°C) и пропускали через стеклянный фильтр для удаления механических примесей. Хитозан высаживали из раствора, используя 5% (в/об) NaOH. Затем суспензию хитозана диализовали против воды в Spectra/Por Membrane MWCO:14,000 и лиофильно высушивали. Для полученных образцов определяли ММ и СДА.

Для определения противогрибковой активности в качестве тест-культур использовали 12 штаммов плесневых грибов, относящихся к Аскомицетам и Зигомицетам, для которых ранее была продемонстрирована способность повреждать лакокрасочные материалы, используемые в произведениях темперной живописи в ГТГ [5]. Для положительного контроля использовали широко применяемый в реставрационной практике антисептик Катамин АБ. Эффективность ингибирования сравнивали по отношению радиального роста грибных колоний на агаризованной среде Чапека-Докса с добавлением хитозанов к росту на контрольной среде (без добавок). Эксперимент проводили в течение 42 суток после инокуляции тест-культур на опытные и контрольные агаризованные среды, измерения проводили каждые 3 дня. Такой дизайн эксперимента позволил определить динамику ингибирования роста при добавлении того или иного хитозана, а также сравнить силу воздействия изучаемых антисептиков.

Оказалось, что активность хитозанов из *H. illucens* в целом возрастает в ряду от 33 до 88 кДа. Причем наибольшая активность соответствует хитозану с ММ 33 кДа, а наименьшая активность соответствует хитозану с ММ 88 кДа. В этом ряду выпадает эффективность ингибирования, продемонстрированная хитозаном с ММ 36 кДа. Она примерно соответствует уровню ингибирования хитозана с ММ 88 кДа. Для того чтобы разобраться в этом феномене определили второй важнейший параметр, который влияет на антимикробные свойства хитозанов, степень дезацетилирования. Выяснилось, что у используемого в нашем эксперименте хитозана с ММ 36 кДа в результате химического гидролиза степень дезацетилирования была ниже, чем у остальных хитозанов. Возможно, это послужило основным фактором, который привел к снижению антимикозных свойств. Наиболее эффективные хитозаны с ММ 33 и 39

кДа из *H. illucens* в целом проявили одинаковый профиль ингибирования с хитозанами, полученными на основе крабового панциря (с ММ 25 и 47 кДа). Ранее в эксперименте с «крабовыми» хитозанами показали, что в ряду 6-12-18-25-45 кДа на агаризованной среде Чапека-Докса наиболее активно подавляют рост хитозаны с ММ 25 и 45 кДа [6]. Причем, демонстрировалась «перекрестная» эффективность, рост одних тест-культур эффективнее подавлялся 25 кДа, других – 45 кДа хитозанами, однако рост всех тест-культур значительно хуже ингибировался «крабовым» хитозаном с ММ 18 кДа; уровень ингибирования падал еще сильнее с уменьшением ММ до 12-ти и 6-ти кДа. В нашем эксперименте проследили обратную тенденцию, в ряду от 33 до 88 кДа. Наиболее эффективными оказались хитозаны с ММ 33 и 39 кДа (36 кДа выпал из эксперимента), далее эффективность ингибирования падала к 53 кДа и еще сильнее к 88 кДа.

Можно сделать вывод, что хитозан, полученный из *H. illucens*, как и крабовый хитозан, может служить перспективным материалом для защиты объектов изобразительного искусства, поскольку демонстрирует близкие защитные свойства против грибов-деструкторов изобразительных материалов. Возможно, в ряду низкомолекулярных хитозанов, получаемых методом химического гидролиза, с ММ от 6 до 88 кДа, существует параболическая зависимость между молекулярной массой хитозанов и эффективностью ингибирования, с максимальным уровнем ингибирования от 25 до 47 кДа и минимальными значениями в районах 6-ти и 88-ти кДа. Поскольку для различных грибных штаммов максимум ингибирования приходится на различные значения внутри ряда 6–88 кДа, суммарный максимум размыт в диапазоне от 25–47 кДа. В связи с этим, при создании эффективного ингибитора широкого спектра действия наиболее действенным видится коктейль из различных хитозанов, одними из компонентов которого могут служить изученные в нашей работе хитозаны из *H. illucens*, с ММ 33 и 39 кДа.

Список литературы

1. Ciferri O. Microbial degradation of paintings // Appl. Environ. Microbiol. Appl Environ Microbiol, 1999. Vol. 65, № 3. P. 879–885.
2. GORDON D. How dangerous is pentachlorophenol? // Med. J. Aust. Med J Aust, 1956. Vol. 43, № 13. P. 485–488.
3. Menon J.A. Tropical hazards associated with the use of pentachlorophenol // Br. Med. J. Br Med J, 1958. Vol. 1, № 5080. P. 1156–1158.
4. Blair D.M. Dangers in using and handling sodium pentachlorophenate as a molluscicide. // Bull. World Heal. Organ. World Heal. Organ. 1961. Vol. 25, № 4–5. P. 597.
5. Zhgun A. et al. Detection of potential biodeterioration risks for tempera painting in 16th century exhibits from State Tretyakov Gallery // PLoS One. 2020. Vol. 15, № 4. P. 1–20.
6. Zhgun A.A. et al. Search for Efficient Chitosan-Based Fungicides to Protect the 15th–16th Centuries Tempera Painting in Exhibits from the State Tretyakov Gallery // Microbiol. (Russian Fed. 2020. Vol. 89, № 6. P. 750–755.
7. Khayrova A. et al. Evaluation of Antibacterial and Antifungal Properties of Low Molecular Weight Chitosan Extracted from *Hermetia illucens* Relative to Crab Chitosan // Molecules. 2022. Vol. 27, № 2. P. 577.
8. Шагдарова Б.Ц. et al. Способ получения низкомолекулярного хитозана и олигомеров хитозана.: pat. 2627870 USA. Россия, 2017.

СТОЙКОСТЬ К ГРИБНОЙ КОРРОЗИИ Ga₂O₃-СОДЕРЖАЩЕГО СТЕКЛА И СТЕКЛОКЕРАМИКИ НА ЕГО ОСНОВЕ

Иванушкина Н.Е.¹, Голубев Н.В.², Игнатъева Е.С.², Голубев В.И.¹

¹Всероссийская коллекция микроорганизмов, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пушкино

²Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва

Практически не существует материалов, которые бы не повреждались микроорганизмами при соответствующих условиях. Даже небольшое развитие микроорганизмов, в частности, грибов на оптических элементах из стекла вызывает снижение коэффициента пропускания, изменяет четкость изображения и требует специальной очистки. Быстрое же разрастание мицелия при повышенных влажности и температуре может сопровождаться даже коррозией материалов на основе стекла [1]. В связи с этим и учитывая прикладной потенциал прозрачных стеклокерамик [2], совмещающих оптические свойства кристаллической фазы и технологические преимущества стекла, возникает вопрос об оценке стойкости к грибной коррозии разрабатываемых материалов. Среди них особое внимание привлекает прозрачная стеклокерамика с нанокристаллами Ga₂O₃, перспективная для визуализации УФ излучения солнечно-слепого диапазона [3, 4], что может быть использовано для мониторинга и оценки технического состояния высоковольтного оборудования, контроля технологии высокотемпературного производства и т.д. Поскольку ионы галлия способны угнетать рост грибов [5], интересным представлялось также проверить, не обладают ли исходные Ga₂O₃-содержащие стекла фунгистатическим действием.

В работе использовали малощелочное галлиевогерманосиликатное стекло расчетного состава 7,5Li₂O-2,5Na₂O-20Ga₂O₃-35GeO₂-35SiO₂ (мол.%) и стеклокерамику на его основе. Оценка фунгистатической активности исходного стекла (в виде полированных пластин размером ~40х40 мм или порошка с удельной поверхностью ~1870 см²/г), а также стойкости к грибной коррозии этого стекла и стеклокерамики проведена в соответствии с требованиями ГОСТ 9.049-91 (метод 3) и ГОСТ 9.048-89 (метод 1), соответственно. Для испытаний применяли смешанную водную суспензию спор пяти видов мицелиальных грибов, рекомендованных для оценки грибостойкости оптических деталей: *Aspergillus penicilloides* ВКМ F-4354, *A. terreus* ВКМ F-1025, *Paecilomyces variotii* ВКМ F-378, *Penicillium chrysogenum* ВКМ F-245, *Scopulariopsis brevicaulis* ВКМ F-406. Концентрация спор каждого штамма в суспензии составляла 1-2 млн/см³. Испытания проводили при 29±2°C и относительной влажности более 90%. Длительность испытания составляла 14 (фунгистатическая активность) или 28 суток (грибостойкость).

В ходе экспериментов по изучению фунгистатических свойств зон ингибирования роста грибов вокруг образцов

стекла не наблюдалось. При микроскопии на поверхности стекла был отчетливо виден развитый мицелий и спороношение, что соответствует баллу 2 по 6-ти балльной шкале интенсивности развития грибов, приведенной в ГОСТ 9.048-89. Измельчение стекла не привело к обнаружению фунгистатической активности. На прочное закрепление ионов галлия в сетке стекла указывает также отсутствие заметной зоны ингибирования роста при наложении образцов стекла на газон дрожжей *Metschnikowia pulcherrima* ВКМ Y-2529 на глюкозо-пептонном агаре. При изучении грибостойкости через 28 суток испытаний на поверхности образцов стекла и стеклокерамики визуально рост грибов не обнаруживался, но при микроскопии наблюдали незначительно развитый мицелий, что соответствует баллу 1 согласно требованиям ГОСТ 9.048-89. Таким образом, установлено, что галлиевогерманосиликатное стекло не обладает фунгистатической активностью и является грибостойким, как и полученный на его основе прозрачный стеклокристаллический материал.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1051.

Список литературы

1. R. Drewello, R. Weissmann. Microbially influenced corrosion of glass. *Appl Microbiol Biotechnol* 47 (1997) 337-346.
2. O. Dymshits, M. Shepilov, A. Zhilin. Transparent glass-ceramics for optical applications. *MRS Bulletin* 42 (2017) 200-205.
3. Н.В. Голубев, Е.С. Игнатъева, А.А. Маурис и соавт. Оптическое стекло с нанокристаллами γ-Ga₂O₃ для визуализации УФ-С излучения. *Стекло и керамика* 11 (2020) 8-11.
4. V.N. Sigaev, N.V. Golubev, E.S. Ignat'eva, A. Paleari, z. Lorenzi. Light-emitting Ga-oxide nanocrystals in glass: a new paradigm for low-cost and robust UV-to visible solar-blind converters and UV emitters. *Nanoscale* 6 (2014) 1763-1774.
5. R.W. Bastos, L. Rossato, C. Valero, K. Lagrou, A.L. Colombo, G.H. Goldman. Potential of gallium as an antifungal agent. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 9 (2019) 414.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МИКРОМИЦЕТОВ УМЕРЕННОГО И УМЕРЕННО ТЁПЛОГО КЛИМАТА НА СВОЙСТВА ЛАКОКРАСОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ

Кривушина А.А., Старцев В.О., Коган А.М.
НИЦ «Курчатовский институт» - ВИАМ, Москва

Лакокрасочные покрытия довольно часто подвержены воздействию микроорганизмов, в частности, микроскопических грибов, в различных климатических зонах. Микробиологические повреждения лакокрасочных покрытий проявляются в виде пятен различной окраски, налётов, вздутий. При интенсивном росте микромицетов на поверхностях лакокрасочных покрытий в местах с повышенной влажностью часто можно наблюдать растрескивание и отслаивание покрытий, образование бугров и отверстий и другие негативные последствия жизнедеятельности микроорганизмов. Целью данной работы было изучение воздействия микромицетов, выделенных в условиях умеренного и умеренно тёплого климата, на декоративные свойства лакокрасочных покрытий.

Исследования проводились на образцах четырёх типов лакокрасочных покрытий: эмаль ЭП-140 с серым и красным пигментом, эмаль ВЭ-69 также с серым и красным пигментом. Данные марки покрытий пользуются большим спросом у предприятий авиационной отрасли, поэтому важно знать ресурс работы покрытия при условии влияния различных факторов среды, в том числе воздействия микроорганизмов-деструкторов. Первым этапом работы было исследование грибостойкости всех четырёх типов покрытий по трём методам ГОСТ 9.049 с применением стандартных тест-культур. Показано, что все испытанные по методу 1 ГОСТ 9.049 лакокрасочные покрытия являются грибостойкими, наименьший рост микромицетов (0-1 балл) отмечен на образцах ВЭ-69. При испытаниях по методам 2 и 3, с добавлением питательных элементов для грибов, отмечен активный рост микромицетов (5 баллов) на всех испытанных покрытиях, что свидетельствует об отсутствии фунгицидных и фунгистатических свойств данных материалов. Исследование адгезионных свойств покрытий ВЭ-69 и ЭП-140 после 28 суток испытаний на грибостойкость не выявило каких-либо изменений на всех образцах.

Вторым этапом работы было выделение микромицетов, контаминирующих образцы материалов в естественных условиях умеренного (г. Москва) и умеренно тёплого климата (г. Геленджик). Были взяты мазки с поверхности материалов в местах с признаками микробиологического повреждения после экспозиции на климатических площадках в МЦКИ имени Г.В. Акимова (г. Москва) и в ГЦКИ Г.В. Акимова (г. Геленджик). В лаборатории проведено выделение штаммов грибов на стандартные питательные среды: Чапека и агаризованное сусло. В условиях умеренного климата было выделено 5 штаммов микромицетов, среди которых один вид рода *Acremonium* и 4 вида рода *Aspergillus*, в том числе такие известные деструкторы как *Aspergillus flavus*, *A. niger* и *A. terreus*. В

условиях умеренно тёплого климата было выделено 6 штаммов микромицетов, среди которых один вид рода *Alternaria*, 3 вида рода *Penicillium*, также выделены виды *Arthriniium phaeospermum* и *Epicoosium nigrum*.

Исследование свойств лакокрасочных покрытий под воздействием отдельных культур выделенных микромицетов проводили по двум методам, в основе которых метод 3 ГОСТ 9.049. В первом случае образцы помещали в чашки Петри на подложку из «голодного» агара и инокулировали водной суспензией спор каждого штамма гриба в отдельности, далее чашки запечатывали парафильмом и инкубировали при температуре $+28 \pm 2$ С, длительность испытания составила полтора месяца. Во втором случае образцы помещали на агаризованную среду с добавлением сусла и инокулировали суспензией спор тех же монокультур, но с добавлением сахарозы и минеральных солей, длительность испытаний составила 3 месяца. После испытаний на воздействие микромицетов проводили оценку свойств ЛКП в соответствии со стандартными методиками, принятыми в лакокрасочной промышленности: метод определения блеска покрытий (ГОСТ 31975–2013); метод определения цветового различия (ГОСТ Р 52490–2005).

По итогам испытаний по обоим методам отмечен активный рост микромицетов (4-5 баллов по шкале ГОСТ 9.048) на всех испытанных покрытиях, исследование адгезионных свойств покрытий ВЭ-69 и ЭП-140 после 1,5 и 3 месяцев воздействия активного роста микромицетов не выявило каких-либо изменений на всех образцах.

После испытаний по методу 1 наибольшее изменение блеска со средним значением 15,59 принадлежит эмали ВЭ-69 красного цвета, остальные типы покрытий показали примерно схожие результаты изменения блеска. Наибольшее цветовое различие после испытаний по методу 2 наблюдается у эмали ВЭ-69 красного цвета со средним значением 11,15 усл. ед., минимальное – у эмали ВЭ-69 серого цвета со средним значением 0,16 усл. ед. Наибольшее изменение блеска принадлежит эмали ЭП-140 серого цвета со средним значением 16,55 и эмали ЭП-140 красного цвета со средним значением 15,23.

Наибольшее воздействие на изменение цвета лакокрасочных покрытий отмечено при воздействии штаммов №viam138 (*Alternaria*), №viam142 (*Penicillium*), №viam139 (*Arthriniium*), выделенных в Геленджике и №viam193 (*Acremonium*), №viam196 (*Aspergillus terreus*), выделенных в Москве. Наибольшее изменение блеска образцов отмечено после воздействия штамма №viam139 (*Arthriniium*), выделенного в Геленджике и штаммов №viam194 (*Aspergillus flavus*) и №viam195 (*Aspergillus niger*), выделенных в Москве. В ближайшее время будет проведена идентификация изучаемых штаммов с применением методов молекулярной диагностики.

Отмечено, что после воздействия грибов изменение цвета покрытий ВЭ-69 и ЭП-140 с красным пигментом выше, чем для покрытий аналогичных эмалей с серым пигментом. Изменений защитных свойств, в том числе

коррозионных повреждений, после 1,5 и 3 месяцев воздействия активного роста микромицетов на образцах покрытий эмали ВЭ-69 и ЭП-140 не выявлено.

НОВЫЙ ОБЪЕКТ БИОДЕСТРУКЦИИ: БЕЛЫЙ ФОСФОР

А.З. Миндубаев¹, Э.В. Бабынин², С.Т. Минзанова³

¹Институт энергетики и перспективных технологий ФИЦ Казанского научного центра РАН, Казань

²Татарский НИИАХП ФИЦ КазНЦ РАН, Казань

³Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань

Аннотация. Нами впервые произведены посевы микроорганизмов в культуральные среды, содержащие белый фосфор в качестве единственного источника фосфора. В данных средах микроорганизмы росли и не испытывали фосфорное голодание. Это первый в мире пример вклю-

чения белого фосфора в биосферный круговорот элемента фосфора. Самая высокая концентрация соответствует превышению ПДК белого фосфора в сточных водах в 5000 раз.

Ключевые слова: биодegradация, белый фосфор, *Aspergillus niger* AM1.

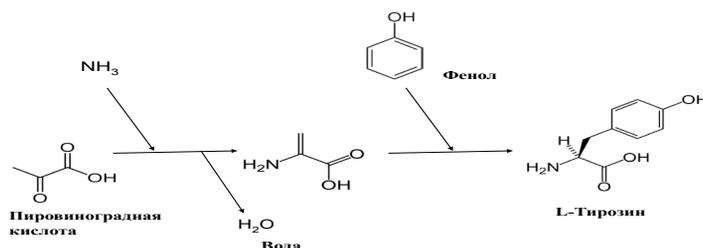
Abstract. Us for the first time different taxonomic groups of microorganisms are inoculated on culture medium containing white phosphorus as the single source of phosphorus. The increase of cultures resistance resulting from directed selection is demonstrated. Carried out search for the white phosphorus metabolites. The highest concentration corresponds to 5000 times excess of MPC of white phosphorus in wastewater.

Key words: biodegradation, white phosphorus, *Aspergillus niger* AM1

щенных неприродными веществами самых разнообразных классов, в том числе очень токсичными [1]. Главное преимущество биодegradации заключается в том, что при ее использовании в окружающую среду не вносятся новые химические загрязняющие агенты. На рисунке 1 продемонстрирована показательная схема одностадийного включения токсичного биоцида фенола в аминокислоту при помощи фермента β-тирозины, демонстрирующая совершенство биохимии микроорганизмов и изображенная на основе литературного источника [2].

Биодegradация является одним из наиболее важных методов обезвреживания промышленных стоков, обога-

Рис.1. Включение фенола в состав аминокислоты тирозина – убедительный пример биодegradации. Рисунок А.З. Миндубаева.

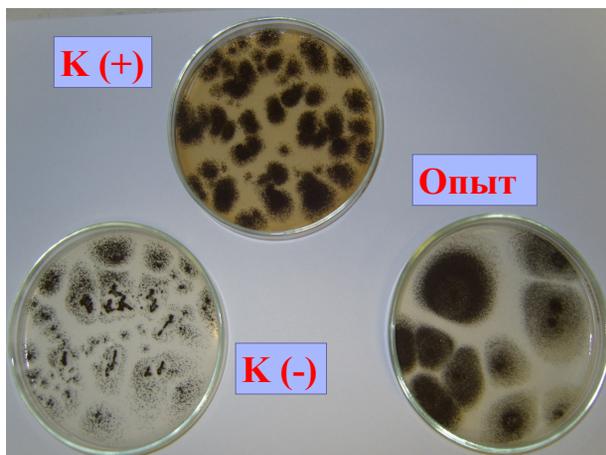


Это является весомым фундаментальным аргументом в пользу возможности биодegradации даже самых опасных веществ, таких, как объект нашего исследования белый фосфор [3, 4].

Нами впервые произведены посевы микроорганизмов в культуральные среды, содержащие белый фосфор в качестве единственного источника фосфора [5]. В данных средах микроорганизмы росли и не испытывали фосфорное голодание (рис. 2). Это первый в мире пример вклю-

чения белого фосфора в биосферный круговорот элемента фосфора. В процессе исследований был обнаружен новый штамм гриба, идентифицированного как черный аспергилл. Источником этого уникального организма стала емкость с кусковым белым фосфором, погруженным в толщу воды. Самая высокая концентрация соответствует превышению ПДК белого фосфора в сточных водах в 5000 раз, а в водах хозяйственно-бытового назначения – в сто миллионов раз [6]!

Рис.2. Рост грибов *A. niger* в культуральной среде, содержащей белый фосфор в качестве единственного источника фосфора. К(+)- среда с фосфатом; К(-) – среда без источника фосфора; опыт – среда с 0.05% белого фосфора. Следует обратить внимание на то, что в присутствии белого фосфора аспергилл растет заметно лучше, чем в среде без источников фосфора. Чашки сфотографированы через шесть суток после посева.



Для генетической идентификации гриба, метаболизирующего белый фосфор и отнесенного к виду *Aspergillus niger*, была определена нуклеотидная последовательность его регионов ITS1 и ITS2. Сравнение полученной последовательности с последовательностями базы данных GenBank с помощью системы BLAST, позволяет идентифицировать данный микроорганизм, как новый штамм *A. niger*. Ему мы присвоили номер *A. niger* AM1. Нуклеотидная последовательность штамма опубликована в базе данных GenBank, где ей присвоен номер KT805426.

Посев *A. niger* AM1 в среду, содержащую сразу два источника фосфора (фосфат и белый фосфор) продемонстрировал, что P4 не проявляет токсические свойства по

отношению к этому микроорганизму. В присутствии белого фосфора он растет с такой же скоростью, как в его отсутствии. Это единственный пример отсутствия выраженной токсичности белого фосфора для живого организма.

В опытном спектре ³¹P ЯМР, снятом с водной фазы, проявились сигналы в области 0,3, 3,7 и 6,2 ppm, соответствующие фосфиту и гипофосфиту. Таким образом, он соответствует соединениям, которые, предположительно, являются метаболитами белого фосфора, т.е., является подтверждением предполагаемого нами метаболического пути [6].

Ниже мы приводим предполагаемую схему метаболизма белого фосфора (рис. 3).

Рис.3. Предполагаемый метаболический путь белого фосфора



Проведена оценка генотоксичности белого фосфора при помощи SOS-lux теста, которая продемонстрировала ее наличие [7]. Этот результат получен впервые – во всех найденных нами источниках сообщается об отсутствии генотоксических свойств у белого фосфора. Белый фосфор проявляет слабую мутагенную активность.

Конфокальная микроскопия показала, что белый фосфор в исследуемой концентрации (0.2 %) оказывает на жизнеспособность мицелия гриба незначительное влияние. Можно было предполагать, что в присутствии этого токсичного вещества пропорциональное количество мертвых клеток должно быть выше по сравнению с контролем. Было установлено, что соотношение живых и отмерших клеток грибов мало зависит от присутствия белого фосфора в среде. Таким образом, белый фосфор в концентрации

0.2% оказывает незначительное влияние на выживаемость мицелия аспергилла, что является поразительным результатом [8].

При воздействии белого фосфора наблюдается изменение электронной плотности и толщины клеточной стенки. Также значительно увеличивается число митохондрий в клетках гиф [9]. Кроме того, на поверхности клеточной стенки появляется дополнительный волокнистый слой, состоящий из протеогликанов – поверхность гиф становится ворсистой, чего не наблюдается в контроле. Данные признаки наверняка связаны с защитой от внешних воздействий – клеточная стенка служит барьером, а митохондрии осуществляют энергетический обмен, поддерживают метаболическую активность.

Исследования протеома, описанные в работе [9], продемонстрировали четкие различия белкового профиля при росте аспергилла в отсутствие и в присутствии белого фосфора. Белковый профиль в свою очередь определяется экспрессией генов, следовательно, есть основания говорить об ответе на загрязнение белым фосфором на этом уровне.

Список литературы

1. Миндубаев А.З. Кто съел полиэтилен? // Наука и жизнь. 2018. № 4. С. 32-38.
2. Milić D., Demidkina T.V., Faleev N.G., Matković-Čalogović D., Antson A.A. Insights into the Catalytic Mechanism of Tyrosine Phenol-lyase from X-ray Structures of Quinonoid Intermediates // The Journal of Biological Chemistry. 2008. Vol. 283. No. 43. P.29206-29214. DOI: 10.1074/jbc.M802061200
3. Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К., Акосах Й.А. Микробиологическое обезвреживание загрязнений токсичными соединениями фосфора // Сборник 3-го Российского микробиологического конгресса. – Псков, 26 сентября – 1 октября 2021 г. – С.95-96.
4. Миндубаев А.З., Волошина А.Д., Валидов Ш.З., Яхваров Д.Г. Биодegradация белого фосфора // Природа. 2017. № 5. С. 29-43.
5. Миндубаев А.З., Акосах Й.А., Алимова Ф.К., и соавт. О разложении белого фосфора осадком сточных вод // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2011. Т.153. № 2. С.110-119.
6. Миндубаев А.З., Волошина А.Д., Бабынин Э.В., и соавт. Микробиологическая деградация белого фосфора // Экология и промышленность России. 2018. Т. 22. № 1. С. 33-37. DOI: 10.18412/1816-0395-2018-1-33-37
7. Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К., и соавт. Генотоксичность и цитогенетическое действие белого фосфора // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т.9. №1. С. 81-94. DOI: <http://dx.doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-1-81-94>
8. Mindubaev A.Z., Kuznetsova S.V., Evtyugin V.G., et al. Effect of White Phosphorus on the Survival, Cellular Morphology, and Proteome of *Aspergillus niger* // Applied Biochemistry and Microbiology. 2020. Vol.56. No.2. P.194-201. DOI: 10.1134/S0003683820020118
9. Миндубаев А.З., Федосимова С.В., Григорьева Т.В., и соавт. Влияние белого фосфора на клеточную морфологию и белковый профиль штаммов гриба *Aspergillus niger* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2021. Т.11. №1. С. 69-79. DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-1-69-79

ГРИБЫ-БИОДЕСТРУКТОРЫ РАЗЛИЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Москалев А.В.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Условно-патогенные грибы, как грибы-биодеструкторы, известны давно. Однако вопросы микробиологической безопасности остаются изученными недостаточно. Современные материалы в результате их контаминации грибами-биодеструкторами подвергаются микробиологическому повреждению и соответственно влиянию на иммунный гомеостаз человека.

Важное значение в характере биоповреждений имеет видовой и численный состав микробиоты, а также оценка патофизиологических эффектов грибов-биодеструкторов [1]. Даже на самых различных материалах с микробицидными эффектами могут выявляться мелкие колонии мицелиальных грибов. Росту микромицетов способствуют повышенная влажность, низкий воздухообмен, имеющий место в закрытых помещениях. Причем рост грибов продолжается пока остается источник питания, а затем сами погибшие колонии являются питательной средой для других микроорганизмов [2]. Такие биологические особенности характерны в основном для несовершенных грибов из порядков Pleosporales и Hymenocerales [3].

В качестве исследуемого материала были смывы с поверхностей конструкций с биоповреждениями. Для выделения микромицетов использовали твердые среды Чапека. Посевы культивировали при $t=24\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 120 часов. Макро- и микроморфологические особенности колоний грибов осуществляли по определителям грибов [4-7].

Среди грибов-контаминантов выявлены штаммы биодеструкторов: *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium cladosporioides*. Они способны к обитанию в самых экстремальных условиях. нами видов микроми-

цетов приспособлены к обитанию в экстремальных условиях. Несомненно, что контаминация может влиять как на элементы оборудования, так и на иммунных гомеостаз обслуживающего персонала. Об этом свидетельствуют следующие показатели. У обслуживающего персонала (17 человек) были снижены уровни Т-лимфоцитов, натуральных киллеров, профили цитокинов ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО α , ИФН γ . На этом фоне установлено повышение уровней ИФН α . Выявленные дисфункции иммунного гомеостаза могут при длительном воздействии приводить к развитию вторичных иммунодефицитных состояний, проявляющихся инфекционным и аутоиммунным синдромами. В первую очередь это будет проявляться незавершенными механизмами фагоцитоза, что будет следствием снижения уровней провоспалительных цитокинов, в первую очередь ИФН γ , который может рассматриваться как один из основных факторов, активирующих фунгицидные механизмы, способствующих синтезу нитроксидных радикалов. Нитроксидные радикалы подавляют ферментные системы гриба, одновременно и макроорганизма, приводящих к развитию цитостатическим эффектам.

Важная роль принадлежит натуральным киллерам, снижение которых отражается на эффективности киллерных эффектов в отношении инфицированных клеток. Также это отражается и на регуляции развития клеточноопосредованного иммунного, в развитии которого ИФН γ имеет большое значение. Снижение количества Т-лимфоцитов также отражается на развитии фунгицидных эффектов.

Таким образом, изменения перечисленных, далеко не полных, факторов, задействованных в поддержании иммунного гомеостаза, приводят к развитию иммунодефи-

цитных состояний. То есть нахождение в помещениях, контаминированных грибами-биодеструкторами приводит к снижению иммунной реактивности, а сами грибы могут быть маркерами нарушений иммунитета. Еще одним аспектом является развитие микотической аллергии. Установлено, что при бытовых атопиях антигены плесневых грибов являются компонентами «аллергенов домашней пыли». Аллергизация организма чаще носит характер гиперчувствительности как немедленного, так и замедленного типов.

Список литературы

1. Смирнова О.Н. Роль сообществ микромицетов в биоповреждении полимерных материалов на предприятиях агропромышленного комплекса: Автореф. дис. канд. биологич. наук: 03.00.16\ О.Н. Смирнова. Н. Новгород, 2000. 26 с.
2. Соломатов В.И., Ерофеев В.Т., Смирнов В.Ф., Семичева А.С., Морозов Е.А. Биологическое сопротивление материалов. Саранск: Изд-во Мордовского ун-та. 2001. 195 с.
3. Бубнова Е.Н. 2004. К изучению грибов литоральных грунтов Белого моря // Микология и альгология – 2004

(Материалы юбилейной конференции, посвященной 85-летию кафедры микологии и альгологии Биологического факультета МГУ). М: Прометей-МГПУ. С.29-30.

4. Саттон, Д. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов / Д. Саттон, А. Фотергил, М. Ринальди. – М.: Мир, 2001. – 468 с.
5. Andreoni, S., Farina C, Lombardi G., Medical Mycology Atlas – Stampa: GRAFIC rt srl – Pademo Dugnano Copyright, 2004. – 239 p.
6. Raper, K.B. A manual of the Penicillia / K.B. Raper, G.A. Thom. – Baltimore, 1949 Domsch, K.H. Pilz aus Agrarboden / K.H. Domsch, W. Gams. – Jena, 1970. – 222 p.
7. Thom, G.A. A manual of the Aspergillus / G.A. Thom, K.B. Raper. – Baltimore, 1945. – 373p.
8. Kis-Papo T., Grishkan I., Oren A. et al. Spatiotemporal diversity of filamentous fungi in the hypersaline Dead Sea // Mycological Research. 2001. V.105. №6. P.749-756.
9. Zuccaro A., Summerbell R. C., Gams W. et al. A new Acremonium species associated with Fucus spp., and its affinity with a phylogenetically distinct marine Emericellopsis clade // Stud Mycol. 2004. №50. P.283-297.

ОЦЕНКА МИКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОМЕЩЕНИЙ ХРАНЕНИЯ ДОКУМЕНТОВ НАЦИОНАЛЬНОГО АРХИВА РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Надеева Г. В., Ионова Н.Э.

Кафедра биохимии, биотехнологии и фармакологии ИФМИБ КФУ

Одной из самых важных проблем, стоящих перед национальными архивами и библиотеками мира, является обеспечение сохранности бумажных документов. Особенно остро эта проблема встает при хранении документов в старинных зданиях, не обеспеченных современными системами контроля и поддержания температурно-влажностного режима, рекомендованного для архивных помещений. Старые кирпичные стены без достаточной гидроизоляции, будучи капиллярно-пористыми материалами, являются прекрасным субстратом для питания и роста мицелиальных грибов. Микодеструкторы могут активно развиваться во внутренних слоях, приводя к серьезному разрушению строительных материалов, прорастая и проникая внутрь помещений, контаминируя стеллажи и объекты хранения. При возникновении благоприятных условий для их развития (повышения температуры выше 20 °С и относительной влажности воздуха больше 60–65 %), они способны к быстрому росту и размножению, вызывая не только пигментирование, плесневение и обрастание материалов, но и полное их разрушение. [1]

Актуальность: Национальному архиву Республики Татарстан, в связи с реорганизацией, была необходима микологическая экспертиза помещения и объектов хранения для оценки рисков биодеструкции и выявления факторов экологического риска для сотрудников. Исследуемое помещение находится в здании постройки 18 века, длительное время не подвергавшемся реконструкции. Объектами хранения являются документы дореволюционного периода их микологический мониторинг не осуществлялся. Вызывало опасение как состояние стен, так и самих объектов хранения и возможность их транспортировки в новые здания

Целью работы являлось изучение микологического состояния помещений хранения документов дореволюционного периода Национального архива Республики Татарстан – определить степень контаминации поверхностей объектов хранения и проанализировать микологический статус строительных материалов стен.

Проведено микробиологическое исследование помещения Национального архива РТ. Было обследовано микробиологическое состояние воздуха, проанализированы пробы, взятые с участков стен с видимыми повреждениями, со стеллажей и с объектов хранения – папок и коробок, в которых хранятся документы. Для анализа отбирались наиболее пораженные предметы со следами плесневения и пигментации.

Материалы и методы. Определение количества микроорганизмов в воздухе хранилищ осуществляли методом седиментации на питательные среды. Подсчет микроорганизмов проводили после выдерживания чашек в термостате при 28° С в течение 5–7 суток, далее пересчитывали количество микроорганизмов на 1 м3, представляя результат в КОЕ (колониеобразующих единиц) в 1 м3 воздуха.

Отбор проб строительных материалов (штукатурки, краски, побелки, кирпичной крошки) проводили методом соскобов и смывов с поверхностей. Смывы с поверхностей брали стерильным ватным тампоном, помещенным в пробирку с 1 мл 0,9% стерильного водного раствора хлорида натрия, площадь смыва составляла 10 кв. см. Соскобы отбирали с помощью стерильного скальпеля [2].

Производили посев на питательные среды: среда Сабуро, среда Чапека и культивировали в течение 10–14 суток при 28±2 0С. Для оценки состояния поверхностей поме-

щений анализировали данные по количеству КОЕ/дм², сыпучих, крошащихся материалов строительных стен КОЕ/г. Идентификацию изолятов микроорганизмов проводили морфологическими и микроскопическими методами.

Результаты и обсуждение. Проведенный анализ видового состава микобиоты помещения архива свидетельствует о присутствии небольшого видового разнообразия, но показывает, что все выявленные изоляты — *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.* могут являться активными биодеструкторами строительных материалов и объектов хранения. Все изоляты обладали протеолитической активностью, что может говорить об их потенциальной патогенности, способной привести к комплексу заболеваний под названием «синдром больных зданий» [3,4].

Результат анализа проб воздуха является важным показателем наличия и степени биоповреждения в здании, так как обычно в помещениях с биоповреждениями повышается контаминация воздуха микроорганизмами, особенно микромицетами, но, по данным исследования, количество микроорганизмов в воздухе помещения Национального архива РТ не превышало 48 КОЕ/м³, что говорит об удовлетворительном состоянии воздуха помещения в данный период времени, так как условно принятой нормой считается, если количество микроорганизмов в 1 м³ воздуха не превышает 300–500 КОЕ/ м³. При этом следует помнить, что количество КОЕ, определенное седиментационным методом, всегда меньше, чем число жизнеспособных клеток в воздухе.

Количество КОЕ/дм² выявленное на поверхностях коробок, папок и стен превышает допустимые нормы, особенно велико их превышение на образцах, отобранных со стен. В этих образцах количество КОЕ/ г достигало 2,9 x10⁶, при норме 1x10³ КОЕ/г. Количество КОЕ/ дм² выявленное на поверхностях коробок и папок достигало 250 КОЕ/дм² и 85 КОЕ/дм² соответственно, что значительно превышало норму (предельно допустимое количество жизнеспособных микроорганизмов на стенах и полках – 50 КОЕ/дм²). Важно отметить, что при увлажнении стен и пыльных стеллажей количество КОЕ может очень быстро увеличиваться в десятки и даже сотни раз.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости тщательной обработки объектов хранения и последующего мониторинга их состояния. Микодеструкторы признаны наиболее агрессивными биоповреждающими агентами строительных материалов, зданий и сооружений [5,6]. Известно, что более 50% общего объема регистрируемых в настоящее время в мире повреждений связано с их деятельностью. Высокая скорость роста и размножения,

широкое распространение в природе, адаптивная способность, эффективность ферментативного аппарата, способность расти в экстремальных условиях, способность образовывать органические кислоты и токсические вещества – все эти биологические особенности грибов обеспечили им доминирующее положение среди организмов, вызывающих биоповреждения. Кроме того, являясь источником токсичных, канцерогенных и аллергенных веществ, микодеструкторы представляют собой опасность для здоровья человека. В связи со всем вышеизложенным представляется необходимым осуществлять регулярный микологический контроль численности и развития микромицетов внутри зданий архивов и библиотек, а также изыскивать эффективные способы предотвращения процесса биоповреждений строительных материалов, из которых возведены эти здания.

Список литературы

1. Добрусина, С. А. Необходимость обследования условий хранения документов [Текст] / С. А. Добрусина; Комплексное обследование книгохранилищ. Методическое пособие; под ред. Э. Г. Вершининой; Федеральный центр консервации библиотечных фондов. – Изд. 2-е, – СПб, 2013. – С.129-141.
2. 2.Методы исследования и оценки биоповреждений, вызываемых микроорганизмами: учеб.-метод. пособие / Н.С. Карамова, Г.В. Надеева, Т.В. Багаева. — Казань, 2014. — 36 с.
3. Vesper, Stephen J. Possible Role of Fungal Hemolysins in Sick Building Syndrome [Text] / Stephen J.Vesper, Mary Jo Vesper // *Advances in Applied Microbiology* – V.55 – 2004. – P.191-213
4. Novak, M. Targeted Lipid Analysis of Haemolytic Mycelial Extracts of *Aspergillus niger* [Text] /M. Novak, K. Sepčić, N. Kraševac, I. Križaj, P. Maček, G. Anderluh, G. Guella, I. Mancini // *Molecules* – 2014. – P.9051-9069
5. Сухаревич, В.И. Защита от биоповреждений, вызываемых грибами [Текст] / В.И. Сухаревич, И.Л. Кузикова, Н.Г. Медведева// СанктПетербург: ЭЛБИ-СПБ. – 2009. – 207 с
6. Sanchez-Silva, M. Deterioration of construction materials: State of the Art and Future Challenges [Text] /M. Sanchez-Silva, A.M. Asce, D.V. Rosowsky, P.E.Asce// *Journal of Civil Engineering*. – 2008. - V.20, No 1. – P.352-365.

«Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030)»

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА РОСТ МИЦЕЛИЯ ГРИБА *SERPULA LACRYMANS*

Полянская А. С., Пучкова Т. А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Древесина является одним из распространенных строительных материалов, так как она прочная, долговечная и удобная для обработки. Повреждение древесины происходит при неправильных условиях хранения и эксплуатации под действием факторов окружающей среды и биологических объектов. В умеренном климате частой причиной повреждения незащищенной древесины являются дереворазрушающие грибы отдела Basidiomycota. Среди них есть возбудители бурой и белой гнили. Процесс поражения древесины грибами в основном зависит от её вида, температуры и влажности.

В странах Восточной, Центральной и Северной Европы распространенной причиной повреждений древесины является гриб сухой гнили *Serpula lacrymans*. Он обычно обитает в постройках, преимущественно в старых зданиях, которые плохо проветриваются и имеют повышенную влажность. Этот гриб может повреждать древесину хвойных и мягких лиственных пород. Он вызывает бурую гниль древесины, так как преимущественно разлагает волокна целлюлозы. Из-за этого древесина растрескивается вдоль и поперек волокон вплоть до превращения её в порошок. За счет относительного увеличения содержания лигнина древесина приобретает бурый цвет. При разложении древесной целлюлозы выделяется вода, поэтому влажность пораженной древесины увеличивается.

В природе плодовые тела *S. lacrymans* встречаются редко. Гриб не любит резкие перепады температур, порывы ветра и действие света. *S. lacrymans* предпочитает расти при температуре около 20 °С, но может выдерживать температуру от 0 до 28 °С. В лесах чаще встречаются плодовые тела родственного вида *S. himantioides*.

S. lacrymans обычно попадает в постройки с воздушными потоками в виде спор или при прорастании через щели мицелиальных тяжей. Зараженную грибом древесину, как например старые доски, в помещение могут занести сами люди. Поражение древесины грибом не сразу можно распознать из-за скрытого характера роста мицелия. На поверхности пораженной древесины мицелий образует белый, ватообразный налет, который со временем становится желтоватым и образует пленку. Древесина для *S. lacrymans* является в основном источником углерода. Макроэлементами и водой мицелий снабжается при помощи тяжей, образующихся при продольном срастании гиф. Их длина может достигать нескольких метров, толщина – до 10 мм. Тяжи распространяются через щели и отверстия в стенах погребов, подвалов, под половыми досками, по вентиляционным шахтам. Гриб может переводить в растворимую форму и извлекать ионы металлов из камня и гипса. Когда мицелий хорошо разовьется на древесине, в месте выхода его тяжей к воздуху и свету образуются плодовые тела распростертой формы, ржаво-бурого или коричневого цвета с белым краем, размером до 0,5 м в диаметре и толщиной до 4 см. Каждое плодовое тело может выделять за сутки огромное количество спор, которые как порошок покрывают его поверхность. При подходящих условиях температуры, влажности и газообмена гриб может нанести значительный ущерб деревянным постройкам и предметам [1, 2].

Целью работы являлось изучение свойств штамма гриба, выделенного из плодового тела, обнаруженного в подвале дачного дома на стыке бетонных блоков фундамента. Оно имело плоскую, распростертую форму, размер примерно 30 × 15 см и толщину около 1 см. Его наружная поверхность была оранжево-коричневой с белым краем, с трубчатым гименофором в средней части. Поверхность, прилегавшая к стене, имела светло-бежевый цвет. В соседнем подвальном помещении обнаружены старые деревянные полки, покрытые высоким, ватообразным мицелием. В месте гниения древесина распадалась на мелкие кубические кусочки. Исходя из макроскопических характеристик плодового тела, а также особенности местообитания и вида гниения древесины гриб определили как *S. lacrymans*.

Для выделения гриба в чистую культуру использовали картофеле-глюкозную агаризованную среду с добавлением стрептомицина, разлитую в чашки Петри. На её поверхность помещали асептически вырезанные кусочки плодового тела. Гриб инкубировали при температуре 22 – 24 °С до образования мицелия, а затем его пересевали на свежую питательную среду.

Чтобы убедиться в чистоте выделенной культуры гриба, фрагменты мицелия окрашивали 3 %-ным раствором метиленового синего и микроскопировали с иммерсионным объективом ×100. В поле зрения наблюдались относительно толстые, разветвленные гифы, имеющие место пергородок характерные для базидиомицетов пружки.

Чтобы подобрать подходящую питательную среду для выращивания гриба в лабораторных условиях, опробовали следующие агаризованные среды: глюкозо-пептонную, кротофельно-глюкозную, Чапека, овсяную, пептонно-дрожжевую, рыбную. При росте на них колонии гриба измеряли раз в двое суток в трех направлениях, рассчитывали ростовой коэффициент и скорость радиального роста [3].

Рост мицелия гриба наблюдался на всех перечисленных средах. Скорость радиального роста составляла 1,0-2,5 мм/сут, ростовой коэффициент – 1,5-15,5. На глюкозо-пептонной среде гриб образовывал колонии с плотным воздушным мицелием сначала белого цвета, а потом появлялся желтоватый пигмент. На агаризованной среде Чапека росли колонии белого цвета с воздушным мицелием средней плотности. Желтоватый пигмент выделялся в среду. На остальных средах мицелий рос медленнее и формировал менее плотные колонии. На увлажненных, простерилизованных древесных опилках в месте посева мицелий сначала рос активно и пушился, а затем наблюдался паутинообразный рост и образование видимых тяжей, что видимо связано с недостатком источника азота. При добавлении опилок в глюкозо-пептонную среду мицелий рос густой и плотный.

Исследовано влияние источников углерода и азота на рост гриба, которые добавлялись в синтетическую среду Чапека. Гриб мог использовать в качестве единственного источника углерода глюкозу, сахарозу, лактозу, целлюлозу. Лучший рост наблюдался на среде с глюкозой. В качестве источника азота использовали нитраты, аммонийные соли, пептон и дрожжевой экстракт. Лучший рост наблюдался с использованием нитратов, пептона и дрожжевого экстракта.

Влияние температуры на рост мицелия гриба изучалось в диапазоне от 8 °С до 37 °С. Наиболее активно мицелий рос при 22-25 °С, с меньшей скоростью при 18 °С и до 28 °С. При 8 °С и 37 °С рост отсутствовал. Исходный рН агаризованной питательной варьировали от 4 до 8. Лучший рост мицелия наблюдался при начальном значении рН 6-7.

Гриб выращивали на специальных питательных средах для качественной оценки наличия ферментативных активностей. На питательной среде с добавлением карбоксиметилцеллюлозы наблюдалось наличие целлюлазы, что характерно для данного гриба. На среде с сухим молоком присутствовала протеолитическая активность. Для определения амилалитической активности использовали среду с крахмалом, пектолитической – с полипектатом натрия, лецитиназной – с желтком куриного яйца. При выращивании гриба на этих средах не обнаружены амилалитические, пектолитические и липолитические ферменты.

Исследовано влияние ультрафиолетового излучения на рост мицелия гриба. Для этого его выращивали на глюкозо-пептонной агаризованной среде в течение нескольких суток, чтобы начался видимый рост мицелия и радиус колонии составил около 15-20 мм. Затем открытые чашки с мицелием облучали с помощью бактерицидной лампы ДБ-15 при длине волны 260 нм на расстоянии 40 см в течение 1-5 минут. После этого культивирование гриба продолжали еще в течение 7 суток и определяли радиальную скорость роста. Установлено, что облучение бактерицидной лампой в течение 2-5 минут приводило к замедлению роста мицелия гриба в 2 – 2,5 раза. Полной гибели мицелия даже после 5 минут облучения не наблюдалось.

Для сравнения, на поверхность полноценной агаризованной среды в чашки Петри засеивали 0,1 мл 18-часовой культуры бактерий *Escherichia coli* и также проводили их облучение в открытых чашках Петри, а затем оценивали их рост после 7 суток культивирования. Показано, что облучение в течение 3-5 минут оказывало бактерицидное действие на большинство клеток бактерий.

Меньшая чувствительность мицелия гриба к УФ облучению по сравнению с бактериями возможно объясняется особенностями его роста. В плотных колониях гриба только верхние клетки подвергались действию УФ излучения. В глубине колонии остались жизнеспособные клетки, которые после облучения продолжили рост. Возможность использования бактерицидного излучения против мицелия и спор дереворазрушающих грибов в помещениях требует дальнейшего изучения.

Таким образом, исследовано влияние условий культивирования на рост выделенного штамма гриба *S. lacrymans*. Показано, что УФ излучение в течение 2-5 минут приводит к замедлению роста мицелия в 2 – 2,5 раза.

Список литературы

1. Schmidt O. Wood and tree fungi biology, damage, protection, and use. – Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2006. – 334 p.
2. Watkinson S. C., Eastwood D. C. *Serpula lacrymans*, wood and buildings // *Advances in applied microbiology*. – 2012. – Vol. 78. – P. 121-149.
3. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. – Киев: Наукова думка, 1988. – 144 с.

МИКРОМИЦЕТЫ ШТУКАТУРКИ И БЕЛОГО КАМНЯ В ИНТЕРЬЕРАХ ПАМЯТНИКОВ КУЛЬТУРЫ

Понизовская В.Б. , Антропова А.Б.** , Биланенко Е.Н.* , Благовещенская Е.Ю.* , Ребрикова Н.Л.*** , Мокеева В.Л.**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

**Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова РАМН, Москва

***Государственный научно-исследовательский институт реставрации Министерства культуры РФ, Москва

Микромицеты являются ключевыми агентами биоповреждения минеральных строительных материалов, разрушая эти материалы как механически, так и химически (Gadd, 2017). Анализу таксономического состава микромицетов строительных материалов на минеральной основе в интерьерах памятников архитектуры посвящено немало исследований (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Gorbushina et al., 2004 и др.). Однако до сих пор нет четкого представления о структуре грибных комплексов каменных субстратов в интерьерах, и открытым остается вопрос о том, какие именно виды являются функционально значимыми в процессе биоповреждения.

Цель работы – дать характеристику сообщества культивируемых микромицетов минеральных строительных материалов (штукатурки и белого камня известняка) в интерьерах памятников культуры.

Обследованы помещения 14-ти объектов культурного наследия: 5-ти белокаменных соборов в городах и сельских населённых пунктах Владимирской области, 8-ми музеях в городах Москва, Тверь, Великий Новгород, а также здания бывшего путевого дворца Елизаветы Петровны в городе Москве. Внутри помещений объектов отбирали пробы

штукатурки и белого камня известняка с деструктурированными и неповрежденными (контрольные пробы) участков стен и несущих конструкций. Для выделения микромицетов использовали среды Чапека и Чапека с крахмалом, идентификацию проводили по морфолого-культуральным и молекулярным признакам. Структура грибных комплексов была проанализирована с использованием параметров численности выделенных из материалов видов (КОЕ/г), их относительного обилия (%) и встречаемости (%). На основании коэффициентов сходства видового состава Сьеренсена между 14-ю исследованными объектами построили дендрограмму кластерного анализа с использованием метода невзвешенного попарного среднего. Мету видового разнообразия сообществ оценивали с помощью индекса разнообразия Симпсона. Исследовали экофизиологические характеристики микромицетов: влияние рН среды и активности воды субстрата на скорость их роста, а также способность изолятов растворять СаСО₃.

В пробах из участков без признаков деструкции (контрольных) численность грибов не превышала 102 КОЕ/г, а влагосодержание этих участков было низким (0,7%–4,2%). В 46% проб из зон деструкции численность грибов значи-

тельно превышала таковую в контрольных пробах и могла достигать 106 КОЕ/г, влагосодержание деструктурированных участков колебалось от 3,4% до 20% и выше. Дендрограмма сходства видового состава между исследованными объектами показала отсутствие очевидного влияния на видовой состав географического положения объектов, а также типа материала (штукатурки или белого камня). Это согласуется с данными литературы о том, что развитие микромицетов в тех или иных участках материала определяется, в первую очередь, совокупностью локальных параметров микроклимата, таких как доступность воды, питательных веществ, значений pH субстрата и проч., которые могут значительно варьировать даже в пределах одного помещения (Dornieden et al., 2000).

Из образцов штукатурки было выделено 43 вида из 17 родов, белого камня – 34 вида из 17 родов, без учета стерильного мицелия. Выделенные микромицеты преимущественно относились к классам *Eurotiomycetes* (41,9%) и *Sordariomycetes* (32,6%) (Ascomycota). Индекс видового разнообразия Симпсона как штукатурки, так и белого камня был высоким (0,80 и 0,79 соответственно), что, по-видимому, отражает сильное влияние микроклиматических параметров, создающихся на каждом отдельном участке материала, на микобиоту. Коэффициент сходства видового состава Сьеренсена между штукатуркой и белым камнем был низким (0,3). Это также можно объяснить значительным влиянием параметров микроклимата на видовой состав, а также различием химических и физических свойств штукатурки и белого камня. Между тем, комплексы видов, которые наиболее активно развивались (исходя из показателей численности и относительного обилия) на исследованных материалах, были сходными. Как на штукатурке, так и на белом камне известняке в интерьерах памятников культуры наиболее активно развивались своеобразные комплексы культивируемых микромицетов, 85,7% и 71% представителей которых соответственно относились к *Hypocreomycetidae* (Sordariomycetes). Для этих комплексов было характерно преобладание аскомицетов с *Acremonium*-подобной морфологией. Своеобразие комплексов грибов, способных активно развиваться на изученных материалах, согласуется с тем, что штукатурка и белый камень известняк характеризуются недостатком легкодоступных органических веществ, обилием минеральных солей, а также диапазоном значений pH от слабых до щелочных. Интересно отметить, что несмотря на частую встречаемость представителей родов *Aspergillus* и *Penicillium* в пробах, они редко обладали высокой численностью и относительным обилием.

Наиболее активно в изученных материалах развивались микромицеты видов *Acremonium charticola*, *Acremonium furcatum*, *Lecanicillium gracile*, *Parengyodontium album*, *Purpureocillium lilacinum* и *Sarocladium kiliense*. Эти виды обладали как наиболее высокими показателями численности (достигая 105 КОЕ/г), так и относительного обилия в пробах. Для трех представителей, *L. gracile*, *P. album* и *S. kiliense*, была проверена и подтверждена способность развиваться в деструктурированной штукатурке. Через 7 суток после инокуляции спорами этих грибов стерильных образцов штукатурки с признаками деструкции в условиях практически 100%-й относительной влажности воздуха микромицеты колонизировали материал, образуя спороношение.

Исследование особенностей экофизиологии проводили у видов, выделенных из штукатурки или белого камня в существенных количествах (104–105 КОЕ/г), что свидетельствовало об их развитии на материалах. Основным фактором, лимитирующим рост грибов, является доступ-

ность воды для их клеток (Gaylarde, Morton, 1999). Большинство видов (67%), развивающихся на штукатурке или белом камне, были мезофилами, которые прекращали рост при снижении параметра активности воды до 0,90, следовательно, им требуется большое количество доступной влаги. Известно, что значения pH строительных материалов в интерьерах могут меняться вследствие их длительного увлажнения и колонизации микроорганизмами. Большинство (64%) развивающихся на штукатурке и белом камне видов были сильными алкалолтерантами, характеризующимися лишь слабым снижением или отсутствием снижения скорости роста на средах с щелочными значениями pH, и оптимумом pH включающим нейтральные значения. При этом все наиболее активно развивающиеся микромицеты, а именно *A. charticola*, *A. furcatum*, *L. gracile*, *P. album*, *P. lilacinum* и *S. kiliense*, хорошо росли при чрезвычайно широком диапазоне значений pH, от слабых до щелочных. Учитывая этот факт и отмеченную в литературе высокую ферментативную активность перечисленных видов (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Semenov et al., 1996; Błyskal, 2009), можно предположить, что они могут длительное время развиваться на изученных субстратах, оказывая на них существенное воздействие в качестве агентов биоповреждения.

Тест на способность растворять CaCO₃ показал положительные результаты у грибов *Acremonium charticola*, *Lecanicillium gracile*, *Lecanicillium sp.* и *Penicillium chrysogenum*. Растворение карбоната кальция, вероятнее всего, происходит за счет выделения в среду грибами органических кислот, которые могут оказывать сильное повреждающее действие на материал (Sazanova et al., 2016). Однако нужно учитывать, что продукцию грибами органических кислот *in vivo* сложно прогнозировать, так как она зависит от многих факторов (Unković et al., 2018).

Список литературы

- Gadd G.M. Geomicrobiology of the built environment // Nature Microbiology. 2017. Vol. 2. N 4. P. 1–9.
- Karpovich-Tate N., Rebrikova N.L. Microbial communities on damaged frescoes and building materials in the cathedral of the Nativity of the Virgin in the Pafnutii-Borovskii monastery, Russia // International Biodeterioration & Biodegradation. 1990. Vol. 27. P. 281–296.
- Gorbushina A.A., Heyrman J., Dornieden T. et al. Bacterial and fungal diversity and biodeterioration problems in mural painting environments of St. Martins church (Greene-Kreienzen, Germany). International Biodeterioration & Biodegradation. 2004. Vol. 53. N 1. P. 13–24.
- Dornieden T., Gorbushina A.A., Krumbein W.E. Biodecay of cultural heritage as a space/time-related ecological situation – an evaluation of a series of studies // International Biodeterioration & Biodegradation. 2000. Vol. 46. N 4. P. 261–270.
- Gaylarde C.C., Morton L.G. Deteriogenic biofilms on buildings and their control: a review // Biofouling. 1999. N 14. P. 59–74.
- Semenov A.M., Batomunkueva B.P., Nizovtseva D.V., Panikov N.S. Method of determination of cellulase activity in soils and in microbial cultures, and its calibration // Journal of Microbiological Methods. 1996. Vol. 24. N 3. P. 259–267.
- Błyskal B. Fungi utilizing keratinous substrates // International Biodeterioration & Biodegradation. 2009. Vol. 63. N 6. P. 631–653.
- Sazanova K.V., Vlasov D.Yu., Osmolovskaya N.G., Schiparev S.M., Rusakov A.V. Significance and regulation of acids

production by rock-inhabited fungi. In: Biogenic–abiogenic interactions in natural and anthropogenic systems. Cham: Springer, 2016. P. 379–392.

9. Unković N., Dimkić I., Stupar M., Stanković S., Vukojević J., Grbić M.L. Biodegradative potential of fungal isolates from sacral ambient: in vitro study as risk assessment implication

for the conservation of wall paintings // PLoS One. 2018. Vol. 13. N 1. e0190922.

10. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00992.

ФУНГИЦИДНЫЕ ПРЕПАРАТЫ, ДЕПОНИРОВАННЫЕ В БИОРАЗРУШАЕМУЮ ПОЛИМЕРНУЮ ОСНОВУ, ДЛЯ БОРЬБЫ С ФИТОПАТОГЕНАМИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Прудникова С. В., Стрельцова Н. В.

Сибирский федеральный университет, Красноярск

Химические средства защиты растений от фитопатогенных грибов занимают ведущее место в современном земледелии. Однако часть вносимых препаратов не достигает цели, рассеиваясь в биосфере [1]. Адресная контролируемая доставка депонированных фунгицидов способствуют снижению распространения химикатов в окружающей среде за счет постепенного выхода действующего вещества из биоразрушаемой основы в почву и поддержания его эффективной концентрации непосредственно в зоне действия [2]. Основой подобных препаратов могут послужить микробные полимеры полигидроксиалканоаты (ПГА), которые подвергаются медленной биодegradации в почве под действием микробных ферментов [3]. В ряде работ сообщается о создании долговременных форм агропрепаратов, депонированных в ПГА, в том числе фунгицидного [4,5] и гербицидного [6] действия. Препараты демонстрируют стабильный выход действующего вещества из основы и эффективность подавления возбудителей болезней растений и сорняков.

Цель работы заключалась в оценке эффективности экспериментальных форм фунгицидов тебуконазола и азоксистробина, депонированных в биоразрушаемую основу из поли(3-гидроксибутирата), в отношении распространенных фитопатогенов, вызывающих болезни зерновых и овощных культур.

Материалы и методы. Экспериментальные формы фунгицидов, изготовленные в виде гранул, включали три компонента. Основу препарата составлял поли(3-гидроксибутират) (50%), в качестве наполнителя использовали доступный природный материал – березовые опилки (40 %), действующее вещество – один из фунгицидных препаратов системного действия – тебуконазол или азоксистробин (10 %). Фунгицидное действие полученных гранул оценивали в сравнении с коммерческими препаратами: Раксил Ультра (ООО «Байер КропСайенс») или Бункер (ЗАО «Август»), действующее вещество – тебуконазол, и Квадрис (ООО «Сингента»), действующее вещество – азоксистробин. На первом этапе исследовали действие экспериментальных гранул *in vitro* на фитопатогенные грибы – возбудители болезней пшеницы, ячменя и картофеля (*Alternaria alternata*, *A. longipes*, *Boeremia exigua*, *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides*). Фитопатогены выделяли из пораженного зерна и клубней картофеля и идентифицировали по данным секвенирования

нуклеотидных последовательностей гена 28S рРНК.

Фунгицидную активность гранул оценивали в чашках Петри диффузионным методом на сусло-агаре, определяя степень ингибирования роста мицелия под действием фунгицидов в сравнении с интактным мицелием (отрицательный контроль). В положительном контроле регистрировали рост мицелия под действием коммерческого препарата.

На втором этапе анализировали биологическую эффективность экспериментальных форм при выращивании пшеницы (сорт Новосибирская 15), ячменя (сорт Биом) и картофеля (сорт Красноярский ранний) в контролируемых условиях в климатической камере (Фитотрон). Растения выращивали в пластиковых контейнерах с полевой почвой. Гранулы фунгицидов вносили одновременно с посевным материалом. Предпосевную обработку (протравливание) коммерческими фунгицидами проводили в соответствии с рекомендацией производителя. Для обработки семян зерновых культур использовали препарат Раксил Ультра, для клубней картофеля – Квадрис.

На третьем этапе экспериментальные препараты испытывали в полевых условиях при выращивании пшеницы, ячменя и картофеля на опытных полях учхоза «Миндерлинское» ФГБОУ ВО Красноярский государственный аграрный университет. Полевые испытания были проведены согласно Руководству по проведению регистрационных испытаний агрохимикатов в сельском хозяйстве [7]. Для предпосевого протравливания зерна использовали препарат Бункер, для обработки клубней картофеля – Квадрис.

Пораженность корней пшеницы и ячменя возбудителями корневых гнилей определяли во влажных камерах в динамике в фазы всходов, кущения, колошения и восковой спелости. Для картофеля оценивали пораженность надземной части возбудителями фитофтороза и альтернариоза в фазы цветения и созревания, а также анализ клубней после уборки урожая. Биологическую эффективность фунгицидов (С, %) в сравнении с отрицательным контролем рассчитывали по модифицированной формуле Аббота [8]:

$$C = 100 \times (P - p) / P$$
, где P и p – распространенность болезни (%), соответственно, в контроле и варианте с внесением гранул фунгицида.

Результаты. В экспериментах *in vitro* установлено,

что все экспериментальные формы обладали выраженным ингибирующим действием на рост колоний фитопатогенных грибов (табл. 1). Средний диаметр колоний патогенов картофеля уменьшился в 1,9-1,9 раза, а пшеницы – в 2,0-2,3 раза по сравнению с группой отрицательного контроля. В то же время эффективность

фунгицидов определялась уровнем чувствительности гриба, что, вероятно, связано с видовыми особенностями. Например, вид *A. alternata* в меньшей степени поражался фунгицидами, чем *A. longipes*, а вид *F. oxysporum* был менее чувствителен ко всем формам фунгицидов, чем *F. solani* или *F. verticillioides*.

Таблица 1 – Чувствительность фитопатогенных грибов к различным формам фунгицидов

Виды грибов	Средний диаметр колоний, см		
	Контроль (-)	Контроль (+) Квадрис	Гранулы азоксистробинном с
Фитопатогены картофеля			
<i>Alternaria alternata</i>	8,0 ±	5,5 ±	6,7 ±
<i>Alternaria longipes</i>	7,6 ±	5,0 ±	4,2 ±
<i>Boeremia exigua</i>	7,3 ±	4,7 ±	5,0 ±
<i>Fusarium oxysporum</i>	7,6 ±	6,2 ±	5,8 ±
<i>Fusarium solani</i>	8,4 ±	5,0 ±	5,4 ±
<i>Phytophthora infestans</i>	7,3 ±	4,9 ±	5,7 ±
<i>Rhizoctonia solani</i>	8,6 ±	7,3 ±	4,6 ±
Фитопатогены зерновых культур	Контроль (-)	Контроль (+) Раксил	Гранулы с
<i>Fusarium solani</i>	8,1 ±	Ультра 5,4 ±	тебуконазолом 3,6 ±
<i>Fusarium verticillioides</i>	8,7 ±	5,0 ±	4,3 ±

В лабораторных и полевых опытах с зерновыми культурами получена положительная динамика оздоровления корневой системы пшеницы и ячменя при использовании депонированных форм тебуконазола (табл. 2). Для необработанных фунгицидами растений пшеницы зараженность корней грибами *Alternaria*, *Bipolaris* и *Fusarium* увеличивалась от стадии всходов к стадии восковой спелости от 20,8 до 33,2%; для ячменя эти показатели составили от 33,3 до 47,0%, соответственно. В положительных контролях выраженный фунгицидный эффект коммерческих препаратов наблюдали через 7 суток. Фунгицидное действие гранул тебуконазола в период появления всходов было слабее,

поскольку требуется время (7-10 суток) для постепенного выхода действующего вещества из гранул и накопления его в почве. В последующие фазы роста биологическая эффективность депонированного тебуконазола увеличивалась и на момент созревания зерна достигала 88-88,6% для пшеницы и 90,6-92,3% для ячменя. Применение обоих форм фунгицидов несколько замедляло развитие проростков из-за ретардантного эффекта тебуконазола. Однако на следующих этапах роста биомасса надземной части пшеницы и ячменя при использовании экспериментальных гранул достоверно превышала показатели отрицательного контроля и была сопоставима с положительным.

Таблица 2 – Биологическая эффективность (%) свободных и депонированных форм тебуконазола при выращивании зерновых культур

Сроки учета	Лабораторный опыт				Полевой опыт			
	Контроль (+) Раксил		Гранулы с		Контроль (+) Бункер		Гранулы с	
	Ультра		тебуконазолом				тебуконазолом	
	пшеница	ячмень	пшеница	ячмень	пшеница	ячмень	пшеница	ячмень
Всходы	52,0	62,5	20,0	50,0	78,7	72,0	73,4	68,0
Кущение	73,3	80,0	71,4	80,0	70,6	73,5	75,5	79,8
Колошение	69,7	75,6	84,4	86,7	65,5	65,1	86,3	85,0
Восковая спелость	69,0	75,1	88,0	92,3	66,7	61,3	88,6	90,6

Внесение депонированного азоксистробина при выращивании растений картофеля в фитотроне ускорило появление всходов на 6-7 суток по сравнению с отрицательным контролем. В группе необработанных растений было отмечено проявление ризоктониоза на уровне 7 баллов [9] (повреждение до 15-20% поверхности растений), в экспериментальной группе и в положительном контроле – на уровне 8 баллов (до 10%). Показатели клубнеобразования при внесении гранул были выше, чем в группе отрицательного контроля, и сопоставимы с положительным. Прибавка урожая к контролю при использовании гранул азоксистробина составила 60%.

В полевых условиях всхожесть картофеля и развитие по фазам не зависели от формы фунгицидного препарата.

В фазе цветения у интактных растений были обнаружены симптомы альтернариоза, а поражение фитопфторозом составило 5,8 %. Биологическая эффективность депонированного фунгицида была на 7,4% выше, чем у коммерческого (табл. 3). К фазе созревания развитие фитопфтороза у необработанных растений резко увеличилось – до 32,6%, поражение альтернариозом составило 2,5%. В этот период биологическая эффективность экспериментальной формы была слабее, чем у коммерческого препарата, однако, качество клубней и структура урожая в этой группе были лучше, чем при традиционной обработке клубней, а прибавка урожая к контролю составила 61,8%.

Таблица 3 – Биологическая эффективность (%) свободных и депонированных форм азоксистробина при выращивании картофеля в полевых условиях

Сроки учета	Контроль (+) Квадрис	Гранулы с азоксистробином
Цветение	51,2	58,6
Созревание	48,3	34,6
Анализ клубней	70,0	94,4

Таким образом, разработанные долговременные формы фунгицидов, депонированные в основу из биоразрушаемого полимера П(ЗГБ) и опилок, обеспечивали более длительное их функционирование в почве и эффективно подавляли развитие фитопатогенов на корнях зерновых культур, а также на надземной части и клубнях картофеля.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта «Агропрепараты нового поколения: стратегия конструирования и реализация» (№ 075-15-2021-626) в соответствии с постановлением Правительства РФ № 220 от 09.04.2010 г.

Список литературы

1. Tleuova A.B., Wielogorska E., Talluri V.P., Štěpánek F., Elliott C.T., Grigoriev D.O. //Recent advances and remaining barriers to producing novel formulations of fungicides for safe and sustainable agriculture. J. Control. Release. 2020. V. 326. P. 468-481.
2. Controlled release of pesticides for sustainable agriculture. / K.R. Rakhimol, S. Thomas, T. Volova, K. Jayachandran (Eds.). Springer. 2020. 266 p.
3. Koller M. The Handbook of Polyhydroxyalkanoates: Postsynthetic Treatment, Processing and Application. CRC Press. 2020.
4. Chen G., Cao L., Cao C. et al. Effective and sustained control of soil-borne plant diseases by biodegradable polyhydroxybutyrate mulch films embedded with fungicide of prothioconazole // Molecules. 2021. V. 26(3). P.762.
5. Savenkova L., Gercberga Z., Muter O., Nikolaeva V., Dzene A., Tupureina V. PHB-based films as matrices for pesticides // Proc. Biochem. 2002. V. 37(7). P.719-722.
6. Grillo R., Santo Pereira A.D.E., De Melo N.F.S. et al. Controlled release system for ametryn using polymer microspheres: preparation, characterization and release kinetics in water //J. Hazard. Mater. 2011. V. 186(2-3). P. 1645-1651.
7. Руководство по проведению регистрационных испытаний агрохимикатов в сельском хозяйстве: производственно-практ. издание / В.Г. Сычев, В.А. Шаповалов, И.П. Можарова и соавт. М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2018. 220 с.
8. Попов С.Я., Дорожкина Л.А., Калинин В.А. Основы химической защиты растений. / Под ред. профессора С.Я. Попова. М.: Арт-Лион, 2003. 208 с.
9. Передовые методы диагностики патогенов картофеля: науч. анал. обзор. / С.В. Жевора, В.Н. Зейрук, Г.Л. Белов и соавт. М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2019. 92с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОИЗВЕДЕНИЙ ИСКУССТВА, ПОВРЕЖДЕННЫХ ИЛИ ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ПОВРЕЖДЕННЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИМИ ГРИ-БАМИ, РАЗНЫМИ МЕТОДАМИ: КУЛЬТУРАЛЬНЫМИ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМИ, БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМ. НОВЫЕ ДАННЫЕ.

Н.Л. Ребрикова

Государственный научно-исследовательский институт реставрации, лаборатория био-логических исследований

В последние годы проведены исследования молекулярно-генетическими методами микробиома известных памятников со следами повреждения микроскопическими грибами и без признаков развития микроскопических грибов. Метагеномный анализ позволяет определить микроскопические грибы без необходимости их выделения и культивирования. Этим методом можно определить некультивируемые грибы и грибы, утратившие жизнеспособность.

В результате анализа микробиома икон XVI века, находящихся в экспозиции Государственной Третьяковской галереи, культуральными и культурально независимыми методами (метагеномного секвенирования) были выявлены культивируемые мицелиальные грибы, относящиеся к родам *Aspergillus*, *Cladosporium* и *Ulocladium*, и некультивируемые дрожжи, а также культивируемые и некультивируемые прокариоты. Основные представители мицелиальных грибов были выделены в чистые линии, для них проведено дополнительное секвенирование, что позволило установить видовую принадлежность: *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus creber*, *Aspergillus protuberus*, *Cladosporium*

halotolerans, *Cladosporium parahalotopens*, *Simplicium lamellicola*, *Microascus paisii*. Вид рода *Ulocladium* определить не удалось.

В Португалии на красочном слое картины, написанной в 1964 году акриловыми красками, методом метагеномного анализа были обнаружены мицелиальные микроскопические грибы, дрожжи и базидиальные грибы из класса Agaricomycetes. Присутствие на живописном произведении базидиальных грибов связали с возможностью переноса по воздуху спор и оседания их на поверхность произведения при транспортировке, экспозиции и хранении. Методом метагеномного анализа можно определить все видовое разнообразие микроорганизмов, присутствующих на участке, с которого отбиралась проба. Следует отметить, что разнообразие микроорганизмов, присутствующих на участке, с которого отбиралась проба. Следует отметить, что разнообразие микроорганизмов, присутствующих на участке, с которого отбиралась проба. Следует отметить, что разнообразие микроорганизмов, присутствующих на участке, с которого отбиралась проба.

На автопортрете Леонардо да Винчи после экстракции и секвенирования ДНК обнаружены лишенизированные грибы (лишайники): *Caloplaca spp.*, *Verrucaria nigrescens*. Лишенизированные грибы были обнаружены в случае от-

бора проб с автопортрета с помощью стерильных ватных тампонов, но в случае, когда для отбора проб были использованы специальные пленки, они не были выявлены. До использования культурально независимых методов некультивируемые лишенизированные грибы никогда ранее не обнаруживались в музейных, библиотечных и архивных фондах. Полученные неожиданные результаты объяснены контаминацией автопортрета спорами или фрагментами мицелия лишенизированных грибов, осевшими на него из воздуха.

Невозможность выделения грибов на стандартные среды для выделения микроскопических грибов еще не повод относить их к некультивируемым. Проблема отсутствия роста экстремально ксерофильных грибов на стандартных средах была преодолена использованием тех же сред, но с существенно пониженным водным потенциалом. Параллельно жизнеспособность грибов в составе микроколоний экстремальных ксерофилов была показана биоплюмбесцентным методом. Экстремофилов были обнаружены на музейных предметах и оборудовании в хранилищах с микроклиматическими параметрами, не выходящими за допустимые пределы в зонах измерения. Условия для их роста возникают во влажностных карманах, возникающих при нарушении циркуляции воздуха в хранилищах, в том числе на живописных произведениях, хранящихся в компакт-стеллажах, при поддержании относительной влажности воздуха вблизи верхней допустимой границы. В 2022 году микроколонии экстремофилов были обнаружены на стенописи в памятнике XII века. На основании проведенных исследований было рекомендовано понизить верхний допустимый предел относительной влажности воздуха для музеев, оборудованных системами кондиционирования воздуха.

Наличие микроорганизмов на произведениях искусства определяется с помощью световой и электронной микроскопии, но в силу ограничений по возможности отбора проб получаемые результаты не всегда удовлетворительны. Величину микробной нагрузки, жизнеспособность клеток можно определить по содержанию внутриклеточной АТФ в пробах. В ряде музеев есть приборы (люминометры) и соответствующие наборы реактивов для определения общего микробного числа. Этим методом определяется общее микробное число, но невозможно охарактеризовать микробном на тестируемом участке. Определение АТФ в мицелии и спорах ксерофилов из музейных фондов позволило показать, что отрицательный результат их выделения связан с невозможностью их роста на средах с высоким водным потенциалом.

Несмотря на обнаружение ДНК грибов и прокариот на живописи и графических произведениях, находящихся в музеях, биоцидные обработки этих произведений не предлагаются. Это объясняется тем, что музейные условия хранения исключают возможность развития микроорганизмов на произведениях. Источники присутствия микроорганизмов на произведениях разнообразны. Многие памятники несут признаки повреждения микроорганизмами, которые произошли давно, так называемые старые повреждения, микроорганизмы, их вызвавшие утратили жизнеспособность. Кроме того, клетки микроорганизмов

могут быть жизнеспособными, но находится в состоянии покоя, так называемые неактивные очаги, или когда отдельные жизнеспособные клетки, осевшие из воздуха, находятся в состоянии покоя и уровень их метаболической активности минимальный. Как уже отмечалось, молекулярно-генетическими методами можно определить присутствие на субстрате как жизнеспособных, так и нежизнеспособных микроорганизмов. Из воздуха при транспортировке, экспозиции и хранении на поверхность произведений оседают клетки микроорганизмов. Выявление ДНК микроорганизмов без подтверждения микроскопией и культуральными методами требует осторожной интерпретации и согласования с наблюдаемыми признаками изменения состояния сохранности памятника.

Есть мнение, что биоцидные обработки могут обеспечить микологическую безопасность художественных произведений в условиях, когда причины развития грибов сохраняются. Однако микроорганизмы быстро приобретают устойчивость к биоцидным препаратам. Использование биоцидов в экспозиционных залах и в запасниках строго регламентируется как с точки зрения экологической безопасности внутри музея, так и с точки зрения сохранности произведений, включая отдаленные последствия применения биоцидного препарата.

Поэтому для обеспечения микологической безопасности необходимо определить причины развития грибов, если при обследовании обнаружены их колонии, устранить их и постоянно поддерживать условия, исключающие возможность их роста. Для предупреждения развития микроколоний необходимо ликвидировать застойные зоны. Изменение микроклиматических параметров лишает возможности роста даже экстремальных ксерофилов.

ГРИБЫ В ПОВЕРХНОСТНЫХ НАСЛОЕНИЯХ НА ПАМЯТНИКАХ ИЗ КАМНЯ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Сазанова К.В.¹, Зеленская М.С.², Бобир С.Ю.³, Шаварда А.Л.¹, Власов Д.Ю.^{1,2}¹Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург³Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена**Введение**

Микроскопические грибы являются одними из основных таксономических групп организмов населяющих каменные субстраты, в том числе памятники культурного наследия, экспонирующиеся в городской среде. Деятельность микроскопических грибов является важным фактором выветривания поверхности камня. Проблема сохранения культурного наследия особенно актуальна, если памятники экспонируются под открытым небом (De Leo, Urzi, 2015; Kurakov et. al., 1999; Warscheid, Braams, 2000; Salvadori, Municchia, 2015). Помимо самих организмов на поверхности таких памятников накапливаются атмосферные загрязнения и остатки опада листьев. Формирующиеся таким образом поверхностные наслоения представляют собой специфическую среду обитания для микроорганизмов. Эти наслоения можно рассматривать как многокомпонентные открытые экосистемы на границе камня и атмосферы. Их исследования требуют различных подходов, в том числе изучения таксономического состава организмов, их функциональных особенностей взаимодействия с субстратом и адаптации к стрессовым факторам среды, а также молекулярного и элементного анализа самих бионаслоений.

Цель данной работы состояла в исследовании поверхностных наслоений на памятниках из мрамора и гранита в Санкт-Петербурге как среды обитания для грибов и фактора биоразрушения камня.

Материалы и методы

Образцы поверхностных наслоений отбирали с гранитных и мраморных памятников Музейных некрополей Государственного музея городской скульптуры, расположенного в центральной части Санкт-Петербурга. Для микологического анализа пробы рассевали на питательные среды (Чапека–Докса, агаризованный овсяный отвар с добавлением глюкозы, картофельно-глюкозный агар, 2%-й мальт-агар) в чашки Петри. Идентификацию микроскопических грибов проводили с применением стандартных методик.

Метагеномный анализ микромицетов в бионаслоениях проводили с использованием праймеров для амплификации сайта (ITC1-5,8C-ITC2) (Бигль, Санкт-Петербург, Россия):

ITS4 TCCTCCGCTTATTTGATATGC
gITS7 GTGARTCATCGARTCTTTG

Секвенирование проводили с помощью системы IonTorrentPGM (LifeTechnologies).

Для анализа малых органических молекул в поверхностных наслоениях образцы дважды экстрагировали метанолом, экстракты выпаривали на роторном испарителе при 40°C и растворяли в пиридине (30 мкл). Для дериватизации использовали BSTFA (N,O-бис-3-метил-силил-3-F-ацетамид) (30 мкл) (инкубировали при 100 °C в течение 15 мин). Пробы анализировали методом хромато-масс-спектрометрии на приборе *Maestro* (Interlab, Москва, Россия) с масс-селективным детектором Agilent 5975 (Agilent, США).

Для обработки масс-спектрометрической информации использовали программу AMDIS (версия 2.65), стандартную библиотеку NIST2005 и библиотеку стандартных соединений БИН РАН. Количественный анализ проводили методом внутреннего стандарта с использованием тридекана в программе UniChrom (версия 5.0.19.1180).

Для анализа тяжелых металлов образцы поверхностных наслоений сжигали в концентрированной HNO₃ в СВЧ минерализаторе Минотавр-2 (Люмэкс, Россия). Концентрации тяжелых металлов определяли методом электрометрической атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС) на приборе МГА 915 (Люмэкс, Россия) с коррекцией фона по эффекту Зеемана.

Для наблюдения за развитием микроскопических грибов в поверхностных наслоениях фрагменты наслоений (около 1 г), собранных с поверхности мраморных памятников, автоклавировали и помещали на дно пластиковых чашек Петри с 15 мл жидкой среды Чапека-Докса и инокулировали конидиями и фрагментами мицелия *Aspergillus niger* (штамм Ch4/07; номер доступа в GenBank KF768341). Наблюдения проводились в течение 14 дней с использованием световой микроскопии и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). СЭМ с анализом EDX проводили на приборе TM 3000 (HITACHI, Япония) с модулем OXFORD EDX и системой Oxford Inca для измерений EDX.

Результаты и обсуждение

В результате микологических исследований культуральными методами в поверхностных отложениях на памятниках выявлено 37 видов микромицетов. Доминирующими видами были темноокрашенные грибы: *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Coniosporium* sp., *Phoma herbarum*. Абсолютным доминантом по частоте встречаемости был гриб *Aureobasidium pullulans*.

В результате метагеномного анализа выявлено достаточно большое количество базидиомицетов, не определяемых культуральными методами. Количество основных таксономических групп составило: *Ascomycetes* - 87.8%; *Basidiomycetes* - 7.7%; *Glomeromycetes* - 0.2%, *Chytridiomycetes* - 0.6%. Наибольший процент встречаемости имели представители родов *Aureobasidium* (13,8 %) и *Celosporium* (10,3 %). Не менее пяти родов *Aureobasidium*, *Capnobotryella*, *Exophiala*, *Endoconidioma*, *Celosporium* (всего 32%) включали меланизированные темноокрашенные грибы.

Доминирование темноокрашенных микромицетов подтверждено как культуральными, так и молекулярными методами.

Среди малых органических молекул в экстрактах поверхностных наслоений были идентифицированы сахароспирты (эритрит, арабит, маннит, мио-инозит, хиро-инозит), сахара (глюкоза, манноза, фруктоза, галактоза, рибоза, сахароза, мальтоза, арабиноза), аминокислоты (аланин, глицин, серин, треонин, пролин), органические кислоты (янтарная, глицериновая, fumarовая, лимонная, яблочная, эритроновая; жирные кислоты (aC 16.0; aC 22.0; aC 26.0)).

В целом качественный состав низкомолекулярных органических компонентов в поверхностных отложениях значительно беднее, чем состав биообрастаний и первичных почв (Sazanova et al., 2021). Скорее всего, основную долю обнаруженных органических веществ составляют не столько сами микроорганизмы, сколько экзогенные источники, например, листвопад. Кроме того, скопление опавших листьев на памятниках может объяснять присутствие базидиомицетов, а также микромицетов, обычно упоминаемых в связи с растительными субстратами (фитопатогены или сапротрофы на растительных остатках).

Методом ААС в пробах поверхностных отложений были обнаружены тяжелые металлы, в том числе Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cd. Железо обнаружено в наибольшей концентрации ($32,280.6 \pm 3009.0 \mu\text{g/g}$). Cd содержался в наименьшем количестве ($8.5 \pm 9.8 \mu\text{g/g}$). Содержание Mn, Zn и Cu составляло от 414 до $510 \mu\text{g/g}$, а Pb - 122.9 ± 6.4 .

Данные экспериментальных исследований показали, что *A. niger* активно растет в на питательной среде с фрагментами поверхностных наслоений, образуя хорошо развитый мицелий и обильное спороношение. По сравнению с контрольным опытом (на стандартной питательной среде), наличие образца поверхностного наслоения не подавляло рост мицелия *A. niger*. В мицелии наблюдалась интенсивная адгезия минеральных зерен и гранул. EDX-анализ показал преобладание Fe, Ca, Si и Al среди минеральных элементов этих частиц. Кроме того, характерным явлением, наблюдаемым в этом опыте, было образование в мицелии кристаллов оксалата кальция. Оксалатов других металлов не было обнаружено.

Полученные данные позволяют заключить, что поверхностные наслоения на мраморных и гранитных памятниках в городской среде являются источником питательных веществ для роста литобиотического сообщества и, очевидно, способствуют его развитию на камне. Поверхностные отложения обладают высокой биорецептивностью, легко адсорбируются мицелием и взаимодействуют с продуктами метаболизма грибов. Потенциально токсичные элементы Zn, Cu и Pb накапливаются в поверхностных наслоениях в достаточно высоких концентрациях. Тем не менее, микромицеты проявляют устойчивость к этим металлам. В городских условиях, когда на камне интенсивно накапливаются поверхностные отложения, вероятно, ос-

новными обитателями поверхности камня являются именно темноокрашенные стрессоустойчивые грибы. Далее, по мере развития более сложных и разнообразных многовидовых литобионтных сообществ, эти виды составляют ядро микобиоты.

Метаболомный профайлинг бионаслоений выполнен при из средств Гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых МК-799.2021.1.4 («Метаболомика сообществ микроорганизмов литобионтных систем»). Для идентификации метаболитов использовали базы данных, созданные в ходе выполнения исследовательского проекта БИН РАН ААА-А-А18-118032390136-5.

Исследование морфологических и физиологических особенностей микроскопических грибов, выделенных с поверхности камня выполнено при поддержке Комитета по науке и Высшей школе (Проект «Литобионтные микроорганизмы в урбоэкосистемах: биохимические особенности, адаптивные механизмы, стратегии формирования сообществ, вклад в процессы биоповреждений»).

Авторы также благодарны ООО «Бигль» за сотрудничество в проведении метагеномного анализа.

Список литературы

1. De Leo, F.; Urzi, C. Microfungi from deteriorated materials of cultural heritage. In *Fungi from Different Substrates*; Misra, J.K., Tewari, J.P., Deshmukh, S.K., Vágvölgyi, C., Eds.; CRC Press, Taylor and Francis Group: New York, NY, USA, 2015; pp. 144–158.
2. Kurakov, A.V.; Somova, N.G.; Ivanovskii, R.N. Micromycetes populating limestone and red brick surfaces of the Novodevichii convent masonry. *Microbiology* 1999, 68, 273–282.
3. Warscheid, T.; Braams, J. Biodeterioration of stone: A review. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2000, 46, 343–368.
4. Salvadori, O.; Municchia, A.C. The role of fungi and lichens in the biodeterioration of stone monuments. *Open Conf. Proc. J.* 2015, 6 (Suppl. S1), 70–82.
5. Sazanova, K.V.; Zelenskaya, M.S.; Rodina, O.A.; Shavarda, A.L.; Vlasov, D.Y. Metabolomic Profiling of Biolayers on the Surface of Marble in Nature and Urban Environment. Case Study of Karelia and St. Petersburg. *Minerals* 2021, 11, 1033.

БИОДЕСТРУКЦИЯ ПОЛИМЕРНЫХ ВОЛОКНИСТЫХ МАТЕРИАЛОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ

Тертышина Ю.В.1-3, Годяева М.М.3, Попов А.А.1,2

*1Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва
2Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва
3Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ, Москва*

Изучение грибостойкости и возможность поражения полимерных материалов различными микроорганизмами исследуется уже давно [1–3]. Обнаружены микроорганизмы, которым не страшны очень высокие и очень низкие температуры окружающей среды. Как известно, биоразрушение осуществляется многими низшими организмами, но плесневые грибы, занимают первое место по силе воздей-

ствия и количеству видов. Исследование биодеструкции полимерных материалов плесневыми грибами остается актуальным и сегодня, так как создаются новые полимеры и полимерные материалы.

После использования часть полимерных отходов оказывается в окружающей среде, часто негативно влияя на растения, животных, водные ресурсы и почву. Для оценки

подобного влияния необходимо изучать процессы разрушения полимерного материала при различных температурах, в условиях повышенной влажности, в различных видах почвогрунта, в том числе возможность поражения плесневыми грибами.

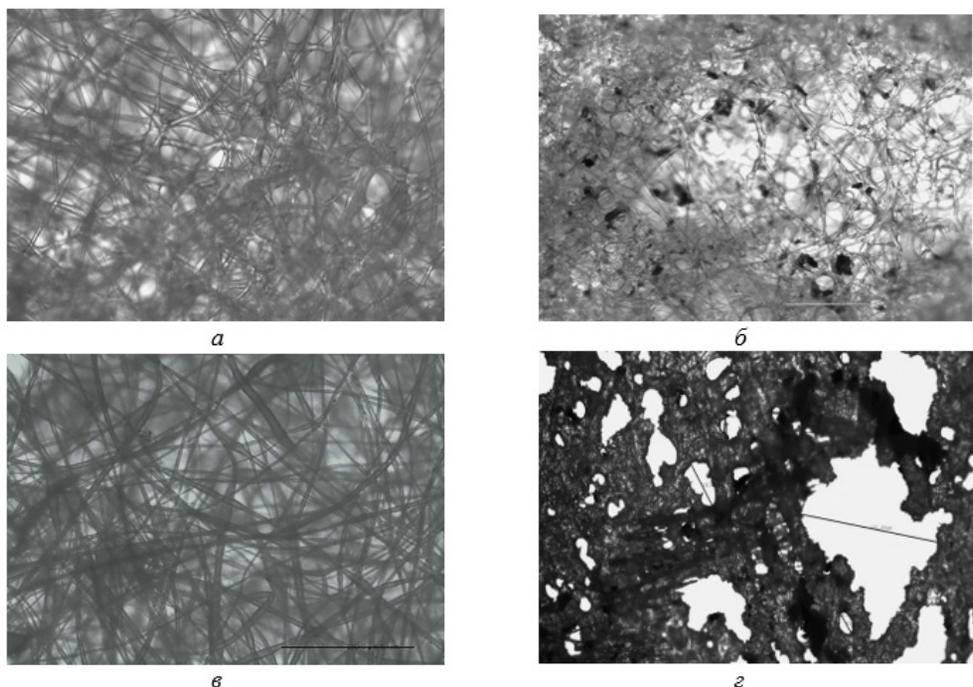
К вышеуказанным полимерам относятся: полилактид, полакапролактон, поли-3-гидроксibuтират, структура и свойства которых изучаются не один десяток лет [4, 5].

Поли-3-гидроксibuтират (ПГБ) – линейный полиэфир, относится к классу полиоксиалканоатов. ПГБ извлекают из биомассы бактерий определенного штамма, который культивируют на питательных углеводных средах [6]. Термопластичный полилактид (ПЛА) получают в две стадии: путем молочнокислого брожения суслу с последующей полимеризацией. Источником сырья для обоих полимеров являются отходы свекловичного, кукурузного и зернового производства, что является несомненным плюсом по сравнению с полимерами, получаемыми из нефти.

Цель данной работы – исследовать возможность поражения плесневыми грибами нетканых волокнистых материалов из природных полимеров: поли-3-гидроксibuтирата и полилактида.

Волокнистые материалы были получены современным методом электроформования. Электроформование – процесс, включающий в себя гидродинамику слабопроводящих жидкостей и фазовые превращения – испарение

Рисунок 1. Волокнистый материал из полилактида исходный (а) и после 60 дней деградации в почве (б) и поли-3-гидроксibuтирата исходный (в) и после деградации в почве (г). Фотография (а) – увеличение 200, (б, в) – увеличение 100, (г) – 40.



Было показано, что *Fusarium moniliforme* способен утилизировать низкомолекулярные побочные продукты разложения ПЛА, включая молочную кислоту, димеры молочной кислоты и высшие олигомеры в жидкой культуре [7]. В другом исследовании 2 штамма *F. moniliforme* и 1 штамм *Penicillium roqueforti* смогли использовать DL-молочную кислоту и олигомеры DL-молочной кислоты в качестве единственных источников углерода после 7 дней инкубации в жидкой культуре [8]. В результате был сделан вывод,

растворителя и отведение полимерного волокна на специальный коллектор. Процесс формования волокнистых материалов осуществляли из 5% растворов полимеров.

Биодеградация в почве

Почвенный тест на восстановленном грунте проводили, используя почвогрунт, приготовленный согласно ГОСТ 9.060 –75. В ходе эксперимента образцы полимеров помещали в почву при $T = 22 \pm 3$ оС, в которой поддерживалась влажность 60-65% с помощью регулярного полива и замера влажности специальным щупом-измерителем ЕТР-301 (Россия). Результат оценивали после 60 дней биодеградации.

Методом оптической микроскопии были получены изображения образцов волокнистого материала из ПЛА и ПГБ до и после деградации в почве в течение 60 дней (рис. 1). Заметно, что после воздействия микроорганизмов почвы на волокна появились темные пятна (рис.1 б), которые не удаляются после промывания водой. Однако явно видно, что процесс биодеградации наиболее глубоко протекает в волокнистом образце поли-3-гидроксibuтирата (рис. 1г): наблюдаются области разрушения больших размеров, мелкие отверстия и изменение цвета.

Видимо, из-за более «зеленого» способа получения ПГБ микроорганизмам: плесневым грибам и бактериям, легче воздействовать на поли-3-гидроксibuтират.

что после абиотической деградации этот штамм был способен утилизировать низкомолекулярные продукты распада.

В работе [9] изучали деградацию плесневыми грибами высокомолекулярного полилактида путем инокуляции грибов в стерилизованный компост и сравнения скорости деградации со стерильным компостом. Это исследование показало синергию между бактериями и грибами в процессе деградации ПЛА, поскольку скорость деградации была выше в нестерильном компосте. Аналогичным образом исследование, изучающее деградацию полилактида при

50°C, продемонстрировало увеличение скорости разложения в нестерильном по сравнению со стерильным компостом и почвой [10]. Два термофильных гриба: *Thermomyces lanuginosa* и *Aspergillus fumigatus*, впоследствии были выделены и показано, что они способны быть биодеструкторами полилактида.

При изучении почвогрунта и посева на агаризованную среду было выделено несколько родов плесневых грибов, которые включены в ГОСТ по оценке грибостойкости.

Тест на грибостойкость

Таблица 1. Рост и развитие плесневых грибов на полимерных материалах (среда Чапека-Докса ГОСТа 9.049 – 91).

Виды грибов	Образец полимерного волокнистого материала	Баллы по шкале от 0 до 5
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ПГБ	5 5
	ПЛА	4 5
<i>Aspergillus flavus</i>	ПГБ	5 5
	ПЛА	3 4
<i>Penicillium chrysogenum</i>	ПГБ	5 5
	ПЛА	3 4
<i>Penicillium purpurogenum</i>	ПГБ	5 5
<i>Trichoderma viride</i>	ПЛА	3 4
Смешанная культура грибов	ПГБ	5 5
	ПЛА	5 5
	ПГБ	5 5
	ПЛА	5 5

Примечание: Баллы (цифры): первая – 28 дней инкубации, вторая – 56.

Согласно проведенным экспериментам, можно заключить, что волокнистый материал из поли-3-гидроксibuтирата (ПГБ) подвергается биодеструкции плесневыми грибами гораздо активнее, чем из полилактида (ПЛА). Процесс развития мицелия у плесневых грибов зависит от многих факторов, поэтому нельзя сказать однозначно, почему так происходит. Возможно, данный факт можно объяснить процессом получения вышеуказанных полимерных материалов. ПГБ получают путем микробиологического синтеза в одну стадию, а в случае ПЛА получают сначала мономер – молочную кислоту, которую затем подвергают полимеризации.

Список литературы

- Тертышная Ю.В., Левина Н.С., Бидей И.А. Рост плесневых грибов на волокнистых и пленочных полимерных материалах. // Успехи медицинской микологии. 2018. Т. 19. С. 80-82.
- Tsuji H., Echizen Y., Saha S.K., Nishimura Y., Photodegradation of biodegradable polyesters: a comprehensive study on poly(l-lactide) and poly(3-caprolactone), Polym. Stab. Degrad. 2006. 91. P. 1128-1137.
- Тертышная Ю.В., Шибряева Л.С., Левина Н.С. Биодеструкция нетканого материала из полилактида и поли-3-гидроксibuтирата под действием микромицетов // Химические волокна. 2020. №1. С. 40-44.
- Тертышная Ю.В., Левина Н.С., Попов А.А., Московский М.Н., Измайлов А.Ю. Гидролитическая деструкция агроволокна из природных полимеров // Химические волокна. 2019. № 2. С. 41-44.
- Ольхов А.А., Иорданский А.Л., Шибряева Л.С., Тертышная Ю.В. // Химическая физика. 2015. Т. 34. № 7. С. 62-68.
- Бонарцева Г.А., Мышкина В.Л., Загреба Е.Д., Николаева Д.А. Способ получения поли-β-оксибутирата заданной молекулярной массы. Патент на изобретение RU 2201453 – 18.10.2001.
- Torres A., Li S.M., Roussos S., Vert M., Degradation of L- and DL-lactic acid oligomers in the presence of *Fusarium moniliforme* and *Pseudomonas putida*, J. Environ. Degrad. 1996. 4 №4. P. 213-223.
- Torres A., Li S.M., Roussos S., Vert M., Screening of microorganisms for biodegradation of poly(lactic-acid) and lactic acid-containing polymers, Appl. Environ. Microbiol. 1996. 62 №7. P. 2393-2397.
- Saadi Z., Rasmont A., Cesar G., Bewa H., Benguigui L., Fungal degradation of poly(l-lactide) in soil and in compost, J. Polym. Environ. 2012. 20 №2. P. 273-282.
- Karamanlioglu M., Robson G.D., The influence of biotic and abiotic factors on the rate of degradation of poly(lactic)

acid (PLA) coupons buried in compost and soil, Polym. Degrad. Stab. 2013. 98 №10. P. 2063-2071.

МИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПЫЛЕВИДНЫХ НАЛЕТОВ НА АРХИВНЫХ ДОКУМЕНТАХ И СРЕДСТВАХ АРХИВНОГО ХРАНЕНИЯ

Тригубович А.М.¹ Гончарова И.А.²

¹Институт микробиологии НАН Беларуси Минск, Беларусь

²Белорусский научно-исследовательский институт документоведения и архивного дела Минск, Беларусь

Одной из основных задач работы архивов является защита документов от разрушительного воздействия микроскопических грибов и устранение опасности их негативного воздействия на здоровье людей [1]. Работа по выявлению дел, пораженных плесневыми грибами, осуществляется в процессе проверки их наличия и состояния, при выдаче пользователям, при подборе для реставрации и других видах работ [2]. Особая опасность вдыхания спор и фрагментов мицелия микромицетов, колонизовавших архивные документы, связана со способностью грибов аккумулировать в клеточных стенках металлы, содержащиеся в старинных чернилах и природных пигментах (железо, медь, ртуть, свинец), химикаты, использовавшиеся в качестве консервантов и другие токсичные вещества [3].

Визуально последствия биоповреждений выявляются достаточно поздно, когда документам уже нанесен непоправимый ущерб. Колонизацию архивных объектов грибами на ранних стадиях можно обнаружить с только помощью микроскопических методов исследования в ходе лабораторного анализа пылевидных налетов. Требовательность к водному режиму, источникам питания и другим факторам внешней среды у грибов значительно варьируют. Споры тех видов грибов, которые в сложившихся условиях обладают определенными преимуществами, начинают массово прорастать, формировать колонии и обильно продуцировать новые споры. В очагах плесневого поражения обычно наблюдается доминирование 1-2 видов, которые, в зависимости от внешних условий, будут характеризоваться определенными свойствами [4].

Проведено сравнительное исследование активности спорообразования изолятами гриба *Aspergillus fumigatus*, выделенными из пылевидных налетов: *A.fumigatus* PP-12 колонизовал металлический стеллаж в хранилище летом при значительном перепаде дневных и ночных температур; *A.fumigatus* PB-4 был выделен с поверхности бумвинилового переплета архивного дела, поступившего на реставрацию.

Критерием штаммовых отличий было выбрано время появления первых признаков отдельных стадий спороношения, определяемых микроскопированием (формирование конидиеносцев, появление гиалиновых конидий) или визуально (проявление зеленого окрашивания конидий). Культивирование проводили на агаризованной среде Чапе-

ка-Докса с 2,0 и 0,1% сахарозы, а также на агаровом геле с добавлением 0,25 г/л простерилизованной пыли, собранной с поверхности средств архивного хранения. Активность воды снижали добавлением в среду 12% хлорида натрия [5]. Чашки Петри инкубировали в термостате (28oC) и бытовом холодильнике (5oC).

Результаты исследования показали, что оба штамма способны использовать минеральные и органические компоненты пыли в качестве элементов питания, формируя на агаровом геле с добавлением архивной пыли обширные колонии с редким паутинистым мицелием, который был хорошо различим только при микроскопировании чашек Петри в отраженном свете. Развиваясь за счет утилизации пыли, грибы обильно спорносили при культивировании в широком температурном диапазоне при различной активности воды, стадии спороношения сменяли друг друга в разное время, зависящее от условий культивирования, но наступали синхронно во всех 5 повторностях опытов. Аналогичная картина наблюдалась и при культивировании грибов на среде Чапека-Докса с 0,1% сахарозы. На полноценной среде Чапека-Докса с 2,0% сахарозы у *A.fumigatus* PB-4 колонии были более плотные с хорошо выраженными краями, спороношение наступало позже, чем при недостатке легкодоступного источника углерода. У *A.fumigatus* PP-12 увеличение содержания сахарозы в среде также замедлило появление спор, однако плотность мицелия осталась прежней.

Различия в сроках наступления отдельных стадий спороношения между штаммами зависели в первую очередь от активности воды. При культивировании на среде с низким содержанием сахарозы и температуре 28oC снижение доступности воды ускорило развитие и формирование спор у *A.fumigatus* PB-4, а у *A.fumigatus* PP-12 – затормозило этот процесс. Вероятно, колонизация стеллажа *A.fumigatus* PP-12 происходила в присутствии капель конденсата, легко образующегося на металлических поверхностях при перепадах температуры. Бумвинил, состоящий из бумаги с полимерным покрытием, обладает гидрофобными свойствами, поэтому *A.fumigatus* PB-4 характеризуется более высокой ксеротолерантностью, чем *A.fumigatus* PP-12 (таблица 1).

Таблица 1 - Влияние температуры и состава питательной среды на скорость конидиеобразования *A.fumigatus* PP-12 и *A.fumigatus* PB-4, сформировавших колонии на металлическом стеллаже и бумвиниловом переплете архивного дела, соответственно

Питательная среда	Т,°С	Д о б а в - ление NaCl	Инкубация до начала стадий спороношения*, ч					
			<i>A.fumigatus</i> PP-12			<i>A.fumigatus</i> PB-4		
			1 ст.	2 ст.	3 ст.	1 ст.	2 ст.	3 ст.
Агаровый гель с пылью	5	--	72	96	120	96	144	168
		12%	96	120	144	72	96	120
	28	--	24	32	40	40	48	64
		12%	40	56	64	32	40	48
ЧДА с 0,1% сахарозы	5	--	64	72	96	96	120	144
		12%	96	120	144	72	96	120
	28	--	18	24	32	48	56	64
		12%	40	72	96	20	32	40
ЧДА с 2,0% сахарозы	5	--	96	120	144	72	96	120
		12%	120	144	168	64	72	96
	28	--	64	72	96	96	144	168

* 1 ст. – появление конидиеносцев; 2 ст. – появление конидий; 3 ст. – проявление окраски конидий

Повышение плотности мицелия *A.fumigatus* PB-4 при пересеве на полноценную питательной среде дает основание полагать, что при формировании данного штамма гриб расщеплял целлюлозную основу бумвинила. Наличие у *A.fumigatus* PB-4 целлюлазной активности подтвердила достаточно широкая зона просветления среды, содержащей КМЦ в качестве источника углерода после окраски индикатором Конго красный, вокруг колонии. У *A.fumigatus* PP-12 в аналогичном опыте зона просветления была меньше диаметра колонии.

Микологический анализ пылевидных налетов позволяет не только выявить наличие очагов плесневого поражения, но и повышает эффективность мероприятий по их ликвидации и профилактике. Для взятия проб архивы могут пригласить специалистов или сделать это самостоятельно: снять пылевидные налеты с помощью гигиениче-

ских ватных палочек, поместить их в герметично закрытые полиэтиленовые пакеты со струнным замком и передать или отправить по почте в микробиологическую лабораторию.

Для широкой системной работы в этом направлении необходимо использовать простые и наглядные методы лабораторного исследования, которые легко выполнить и интерпретировать. Используя посев проб пыли диаметрными штрихами на модельные среды и варьируя условия культивирования, можно получить ценную информацию о штаммовых особенностях грибов – агентов плесневого поражения. Стандартизацию констатации характера развития гриба может облегчить введение балльной системы оценки (рисунок 1).

Рис. 1 - Балльная система оценки особенностей развития агента плесневого поражения в зависимости от внешних условий

Характер развития (баллы)				
0	1	2	3	4
нет роста	мицелий	споры	мицелий и споры	вторичный рост

Характер развития штамма *A.fumigatus* PP-12 во всех вариантах исследования соответствует сначала баллу 0 (визуально наличие роста определить сложно), а затем баллу 2 (споры без видимого мицелия). На пылевой среде и ЧДА с 0,1% сахарозы конечный характер развития *A.fumigatus* PB-4 тоже близок к 2 баллам, однако на ЧДА с 2,0% сахарозы этот балл вообще отсутствует, после мицелиальной стадии (балл 1) наступает стадия спороношения (балл 3), когда мицелий виден только на реверсе колонии.

При диагностике плесневого поражения, выборе средств его ликвидации, и разработке профилактических мероприятий архивные работники и специалисты должны иметь надежную доказательную базу в виде лабораторных анализов, которые должны быть корректно выполнены, а их результаты четко оформлены.

Список литературы

1. Borrego S., Perdomo I. Aerobiological investigations inside repositories of the National Archive of the Republic of Cuba // *Aerobiologia*. – 2012. – V. 28, N. 3. – P. 303–316.
2. Привалов В. Ф. Обеспечение сохранности архивных документов на бумажной основе: Методическое пособие / Росархив, ВНИИДАД. – М., 2003. – 112 с.
3. Gadd, G. M. Interaction of fungi with toxic metals / G. M. Gadd, // *New phytol.* – 1993. – Vol. 124. – P. 25–60.
4. Научно-практические рекомендации по защите архивных документов на бумажных носителях от плесневых грибов / сост. И.А.Гончарова. – Минск: БелНИИДАД, 2020. – 64 с.
5. ГОСТ Р ИСО 21807-2012. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Определение активности воды. – М. Стандартинформ.– 2013.– 8 с.

ФЕРМЕНТЫ ЛИГНИНОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ФИТОПАТОГЕНА *MICRODOCHIUM NIVALE*

Горшков В.Ю.², Мещеров А.Р.², Ветчинкина Е.П.¹

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН»

²Казанский институт биохимии и биофизики, ФИЦ «Казанский научный центр РАН»

В глобальном цикле углерода ключевая роль принадлежит биодеградации стойких природных полимеров, таких как лигнин, целлюлоза и гемицеллюлоза. Основными участниками этого процесса, являются грибы «белой гнили» ксилотрофные *Basidiomycota*, колонизирующие мертвые или ослабленные деревья. Благодаря наличию мощной ферментной системы с широкой субстратной специфичностью эти грибы способны разлагать все компоненты древесины с образованием водорастворимых продуктов более доступных и для грибного метаболизма, и для их дальнейшей деградации другими микроорганизмами. Менее изучена эта способность у грибов из отдела *Ascomycota*, вызывающих «мягкую гниль» древесины. Однако ряд исследований продемонстрировал неплохую способность аскомицетов к биодеградации лигноцеллюлозы [1, 2]. Кроме того, многие микромицеты являются фитопатогенами, которым для биодеградации клеточной стенки и проникновения в растение необходимы, в том числе ферменты, катализирующие разрушение фенольных соединений. Все это позволяет предположить у микроскопических аскомицетов значительный потенциал в плане разложения широкого спектра ароматических соединений.

Цель исследования – определение лигноцеллюлолитического потенциала фитопатогена *Microdochium nivale* (*Ascomycota*), сравнение активности внеклеточных фенолоксилирующих ферментов в культурах разных штаммов, реакции на присутствие метаболитов растений-хозяев и оценка их способности к биодеградации лигнина.

Материалы и методы исследования. Природные изоляты микромицетов *Microdochium nivale* (*Fr.*) *Samuels and I.C. Hallett* (*Ascomycota*) (21 штамм) выращивали глубинным методом на минеральной среде при 26°C; мицелий отделяли от супернатанта центрифугированием при 13000g, 10 минут, 4°C [3]. Ферментативную активность оценивали через 10, 20 и 30 дней после инокуляции в четырех биологических повторностях. Внеклеточную активность ферментов определяли по способности к окислению типичных для данных оксидоредуктаз фенольных субстратов и измеряли при 18°C в 96-луночных полистироловых микропланшетах на спектрофотометре Spark 10M («Tecan Group» Ltd., Швейцария). Активность лигнин пероксидазы определяли по способности аскомицетов к деградации 2 мМ вератрилового спирта («Acros Organics», США) при 310 нм [4]; активность Mn-пероксидазы по скорости окисления 2,6-диметоксифенола (DMOP, «Acros Organics», США) в присутствии пероксида водорода и ионов марганца при

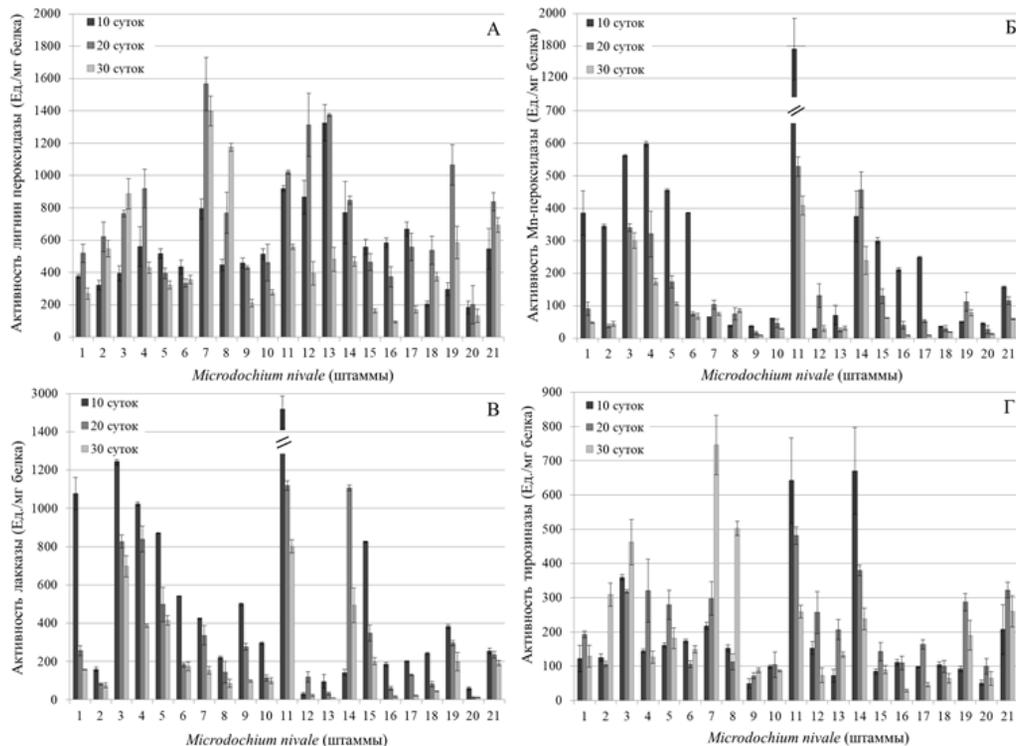
468 нм [5]; активность лакказы по скорости окисления 0,2 мМ 2,2'-азинобис-3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты (ABTS, «Sigma-Aldrich», США) при длине волны 436 нм [6]; и тирозиназы по скорости окисления 2 мМ L-дигидроксифенилаланина (L-DOPA, «Serva», Германия) при 475 нм [7]. За единицу активности принимали количество фермента, катализирующего превращение 1 мкМ субстрата за 1 минуту. Удельную активность выражали в единицах на 1 мг белка. Концентрацию белка определяли по методу Бредфорд [8]. Электрофорез проводили в неденатурирующих условиях в 7,5% ПААГ [9]. Для визуализации белков с фенолоксидазной активностью проводили специфическое окрашивание гелей о-дианизидином («Sigma-Aldrich», США) [10, 11] и L-DOPA [7]. Для определения способности аскомицетов *M. nivale* к деструкции растительных фенолов исследуемые штаммы выращивали на картофельно-агаризованной среде с добавлением 0,2% танина (Tannic acid, «Fluka», Германия) и выявляли по образованию окрашенных продуктов распада танина («реакция Бавендамма») [12, 13]. В качестве субстрата для выявления лигниндеградирующей способности внеклеточных ферментов *M. nivale* использовали нитроованный лигнин. Продукты разложения лигнина определяли спектрофотометрически на приборе Spark 10M («Tecan Group» Ltd., Швейцария) при 310 нм в течение 20 минут с интервалом измерения 1 мин. Полученные значения нормировали на концентрацию белка. Реакции проводили как в присутствии, так и в отсутствие H₂O₂ [14]. Эксперименты проводили в четырех технических повторностях в четырех независимых опытах. Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных математических подходов.

Результаты и обсуждение. Нами была изучена способность к секреции оксидоредуктаз и разложению лигноцеллюлозы аскомицетами «мягкой гнили» *Microdochium nivale*. В состав лигнинолитического ферментного комплекса грибов, в качестве основных, входят катализирующие деградацию лигнина оксидоредуктазы: лигнин пероксидазы (лигниназы, EC 1.11.1.14), Mn-зависимые пероксидазы (Mn-пероксидазы, EC 1.11.1.13) и полифенолоксидазы (лакказы, EC 1.10.3.2 и тирозиназы, EC 1.14.18.1). Для выяснения лигнинолитического потенциала, исследовали динамику активности внеклеточных ферментов у 21 штамма *M. nivale* при глубинном культивировании. Все исследуемые штаммы обладали активностью лигнин пероксидазы, Mn-пероксидазы, лакказы и тирозиназы, уровни и пики активностей данных ферментов значительно варь-

ровали в зависимости от возраста культуры и штаммовой принадлежности (Рис. 1). Активность лигнин пероксидазы составляла 190–1300 ед./мг общего белка на 10 сутки, 200–

1600 ед./мг на 20 сутки и 100–1400 ед./мг на 30 сутки культивирования на минеральной среде (Рис. 1А).

Рис. 1. Динамика удельной активности внеклеточных лигнин пероксидаз (А), Мп-пероксидаз (Б), лакказы (В) и тирозиназы (Г) у 21 штамма фитопатогена *Microdochium nivale* в зависимости от времени культивирования (10, 20 и 30 суток) на минеральной среде.



Максимум активности Мп-пероксидазы у большинства штаммов отмечен на 10 сутки и составлял от 30 до 1800 ед./мг. На 20–30 сутки у всех штаммов, в отличие от лигнин пероксидазы, активность Мп-пероксидазы заметно снижается, и составляет 20–550 ед./мг и 10–400 ед./мг на 20 и 30 сутки, соответственно (Рис. 1Б). Аналогичная тенденция к уменьшению активности от 10 до 30 суток, прослеживается и в отношении лакказы. Для большинства штаммов наибольшая активность лакказы приходится на 10 сутки, от 50 до 3000 ед./мг, минимальная активность фермента отмечена в 30 суточных культурах, от 20 до 800 ед./мг (Рис. 1В). Удельная активность тирозиназы у большинства штаммов была наибольшей на 20 сутки – от 80 до 500 ед./мг, наименьшей на 10 сутки – от 50 до 350 ед./мг, хотя у двух штаммов пик активности тирозиназы (650 и 680 ед./мг) был отмечен в 10 суточных культурах (Рис. 1Г).

Было установлено, что внесение растительного экстракта (экстракт ржи) в среду культивирования значительно индуцировало активность лигнин пероксидазы и Мп-пероксидазы, особенно через 12 часов (в 5 раз) и 24 часа (4 раза) после начала эксперимента, в отличие от полифенолоксидаз (лакказы и тирозиназы), где активация была незначительная.

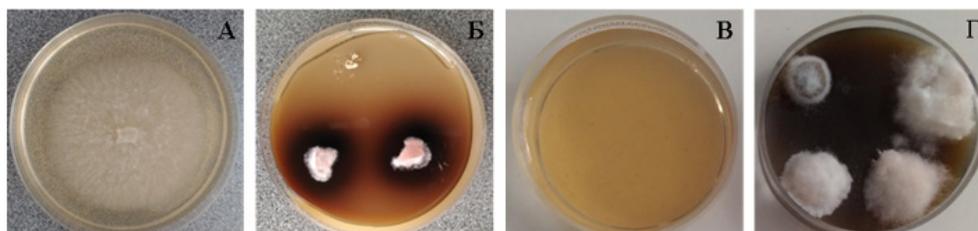
С помощью нативного электрофореза и специфической окраски мы установили, что все штаммы *M. nivale* продуцируют ферменты лигнинолитического комплекса, дающие специфическую окраску при взаимодействии с фенольными субстратами (о-дианизидином, 2,6-DMOP и L-DOPA).

Большинство штаммов продуцируют по одной молекуле фермента, окисляющего соответствующий фенольный субстрат. Но у некоторых штаммов наблюдаются различия в составе ферментов лигнинолитического комплекса, и обнаруживаются по несколько форм фенолоксидаз.

Была установлена способность штаммов *M. nivale* к биодеградации фенольного соединения растительного происхождения танина. Данные соединения представляют собой производные флавоноидов, главным образом димеры 3,4-флавандиола (лейкоантоцианидина) или 3-флаванола (катехина), и необходимы растениям для подавления роста патогенных микроорганизмов, в том числе фитопатогенных грибов. При твердофазном культивировании микромицетов *M. nivale* на среде с добавлением 0,2% танина было отмечено появление коричневой окраски субстрата около растущего края колоний (Рис. 2Б), данная цветная реакция имеет название «реакция Бавендамма» и позволяет обнаружить продукты окисления танина лигнинолитическими ферментами [12, 13]. У контрольных культур, растущих при тех же условиях, но без добавления в среду танина, появление коричневой окраски субстрата не наблюдали (Рис. 2А). Надо отметить, что грибы были способны к более или менее активному росту, в зависимости от конкретного штамма, на среде с танином, разлагая данное фенольное соединение с накоплением в среде культивирования окрашенных продуктов окисления (Рис. 2Г), не инокулированная картофельная среда с танином (контроль) оставалась не окрашенной (Рис. 2В).

Рис. 2. Биодegradация танина («реакция Бавендамма») лигнинолитическими ферментами фитопатогена *M. nivale* при твердофазном культивировании.

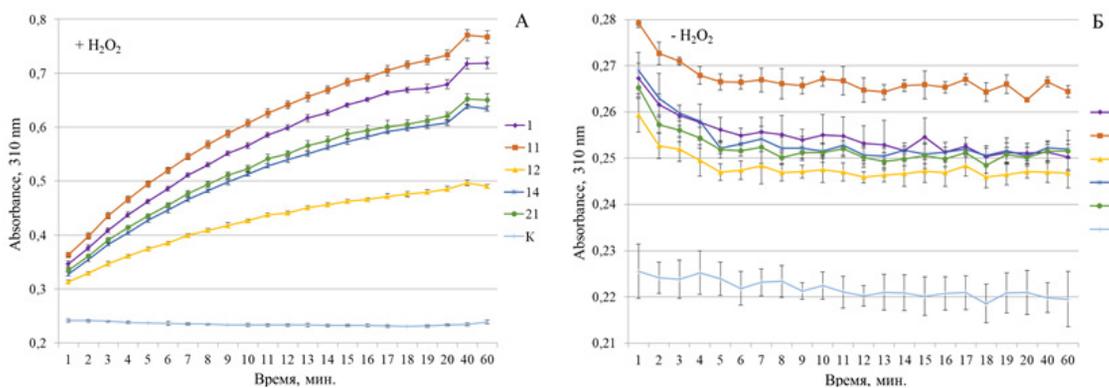
Контрольная культура (19 штамм) (А), коричневая окраска продуктов окисления танина около растущего края колоний (19 штамм) (Б), не инокулированная картофельная среда с танином (В), активный рост штаммов 18 – 21 на среде с танином (Г).



Лигнин один из наиболее устойчивых к разложению компонентов растительных тканей. Опираясь на полученные в нашей работе результаты, которые показывают наличие у штаммов *M. nivale* высокоактивных ферментов лигнинолитического комплекса, мы предприняли исследование по определению возможности внеклеточных оксидоредуктаз аскомицета к биодegradации лигнина. При спектрофотометрии в УФ-области при 310 нм наблюдалось увеличение абсорбции с течением времени относительно контроля (Рис. 3А). Очевидно, мы наблюдаем образование, и с течением времени накопление, неокрашенных продуктов ферментативного окисления лигнина, поглощающих в ультрафиолетовом диапазоне. Стоит отметить, что у 12 штамма *M. nivale*, который проявлял наименьшую способность к биодegradации лигнина, была также ранее отмечена

на минимальная, по сравнению с остальными штаммами (1, 11, 14, 21) активность ферментов Mn-пероксидазы и лакказы (Рис. 1). Полученные данные указывают на вовлечение в процесс окисления ферментов пероксидаз, требующих в качестве ко-субстрата перекись водорода, поскольку без наличия в реакционной смеси перекиси водорода, аскомицета *M. nivale* не был способен к дegradации молекулы лигнина (Рис. 3Б). Причем, по-видимому, необходимо совместное действие лигнин пероксидаз и Mn-пероксидаз (и, вероятно лакказы), поскольку у 12 штамма *M. nivale* были высоко активны лигнин пероксидазы, при очень низкой активности других ферментов, а окисление лигнина было на очень низком уровне, по сравнению с остальными штаммами, у которых ферменты лигнинолитического комплекса были высокоактивны.

Рис. 3. Динамика поглощения в ультрафиолетовом диапазоне (310 нм) при биодegradации лигнина штаммами *M. nivale* в зависимости от времени реакции и при наличии (А) или отсутствии (Б) в реакционной смеси перекиси водорода



Таким образом, исследования продемонстрировали наличие высокоактивных ферментов лигнинолитического комплекса и способность к биодegradации фенольных субстратов штаммами фитопатогена *M. nivale*, вызывающими «мягкую гниль» древесины, что говорит о значительном потенциале в этом плане у грибов из отдела Ascomycota. Учитывая их повсеместное распространение, микроскопические грибы могут стать активными объектами в промышленной биоконверсии лигноцеллюлозы, устойчивых продуктов фармацевтической индустрии, а также применяться для биоремедиации окружающей среды.

Список литературы

1. Anand Barapatre and Harit Jha. Biocatal. Biotransform. 2017. V. 35, № 4. P. 269–286.

2. Kornilowicz-Kowalska T. and Rybczyn'ska K., Int. J. Envir. Sci. Technol. 2015. V. 12. P. 2673–2686.
3. Booth C. Methods in microbiology. Academic Press, 1971. V. 4. P. 49–94.
4. Orth A.B., Royse D.J., Tien M. Appl. Envir. Microbiol. 1993. V. 59. P. 4017–4023.
5. Martinez M.J., Ruiz-Duenas F.J., Guillen F., Martinez A.T. Europ. J. Biochem. 1996. V. 237, № 2. P. 424–432.
6. Slomczynski D., Nakas J.P., Tanenbaum S.W. Appl. Envir. Microbiol. 1995. V. 61. P. 907–912.
7. Pomerantz S.H. and Murthy V.V. Arch. Biochem. Biophys. 1974. V. 160. P. 73–82.
8. Bradford M.M. Anal. Biochem. 1976. V. 72. P. 248–254.
9. Laemmli U.K. Nature. 1970. V. 227, № 5259. P. 680–685.
10. Gaal O., Medgyesi G.A., Vereczkey L. Wiley: New York, 1980. 448 pp.

11. Glenn J.K. and Gold M.H. Arch. Biochem. Biophys. 1985. V. 242. P. 329–341.
12. Tiso N., Mikašauskaitė J., Stankevičius M., Snieskienė V., Stankevičienė A., Polcaro C., Maruška A. Toxicol. Envir. Chem. 2015. V. 98, № 1. P. 77–89.
13. Ahmad M., Taylor C.R., Pink D., Burton K., Eastwood D., Bending G.D., Bugg T.D.H. Mol. Biosyst. 2010. V. 6. P. 815–821.
14. Мокрушина Н.С., Тарасова Т.С., Дармов И.В. Вестник Нижегородского университета. 2010. № 2. С. 430–434.

МИКРОМИЦЕТЫ – ДЕСТРУКТОРЫ ПОЛИСИЛОКСАНОВ

Яковлева Г.¹, Данилаев М.², Ли Х.К.³, Курди У.¹, Ильинская О.¹

¹Казанский Поволжский федеральный университет

²Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева-КАИ

³Приморский филиал Российско-Вьетнамского научно-технического центра, Нячанг, Вьетнам

Поликарбонат и полиметилметакрилат – известные промышленные материалы, используемые для остекления транспортных средств, зданий и сооружений. Для защиты этих материалов от агрессивных внешних факторов, приводящих к потере оптических и механических свойств, известным способом является нанесение кремнийорганических полисилоксановых покрытий. Однако сами полисилоксановые покрытия также не могут избежать старения, что снижает срок службы полимерных материалов. В природе, особенно в условиях тропического климата, покрытия подвергаются не только воздействию ультрафиолета, повышенной влажности и высоких температур, но и воздействию микроорганизмов, главным образом микроскопических грибов, споры которых оседают на поверхности и способны прорасти. Полисилоксан, синтезированный в настоящей работе, представляет собой сетчатую структуру, где отсутствуют гетероатомы, например, P, B, Ti, Al, включение которых делает полисилоксаны более подверженными термической деструкции. Целью исследования стали выделение и идентификация микроскопических грибов из образцов оргстекла, покрытых полисилоксаном, находившихся в течение 12 месяцев в естественных условиях тропического климата во Вьетнаме, и анализ агрессивных факторов грибов, приводящих к биоповреждению этих материалов.

Использовались три вида образцов органического стекла размером 50×50 мм (в соответствии ГОСТ 9.053-75): монолитный поликарбонат; монолитный полиметилметакрилат; поликарбонат толщиной 4 мм, склеенный с поликарбонатом толщиной 8 мм (триплекс). Все матричные образцы были покрыты полисилоксаном и выдержаны на экспериментальной площадке Приморского филиала Российско-Вьетнамского научно-технического центра в Нячанге. После доставки образцов в лабораторию с биообрастания поверхности были выделены отдельные микромицеты классическими методами культивирования на плотной среде Чапека-Докса. Идентификация по морфологическим признакам была дополнена анализом последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS) – высокополиморфной некодирующей области ядерной ДНК (рДНК) – стандартным анализом таксономии грибов на уровне видов [1]. ПЦР-амплификацию области ITS из каждого изолята из образцов проводили с использованием ITS-1 в качестве прямого праймера, ITS-4 в качестве обратного праймера [2]. Фрагменты мицелия измельчали встряхиванием со стеклянными шариками диаметром 5

мм (Sigma). ДНК выделяли с использованием коммерческого набора Fast DNA spin kit для почвы (MP Biomedicals) в соответствии с инструкциями производителя. Концентрацию выделенной ДНК измеряли на флуориметре Qubit (Invitrogen, США). ПЦР проводили в 50 мкл смеси, содержащей 0,2 мМ dNTP (СибЭнзим, Новосибирск), по 20 пмоль каждого праймера (Синтол, Москва), 2,5 ед. Taq-полимеразы (Синтол, Москва), 2,5 мМ MgCl₂ (Синтол, Москва) и 2 нг геномной ДНК. Протокол амплификации: начальная денатурация 3 мин – 95°C, 30 циклов (30 сек – 95°C, 30 сек – 50°C, 1 мин 10 сек – 72°C), конечная элонгация 10 мин – 72°C. Полученные фрагменты разделяли электрофорезом и визуализировали в УФ-свете. Продукты ПЦР очищали с помощью набора Omnipix (Омикс, Санкт-Петербург). Секвенирование ДНК проводили по методу Сэнгера на анализаторе ABI Prizm 3500 (Applied Biosystems, США). Очистку аналогов терминирующих нуклеотидов проводили с помощью набора BigDye XTerminator Purification Kit (Applied Biosystems, США).

Установлено наличие в обрастаниях следующих грибов: *Aspergillus niger*, *Aspergillus puulaauensis*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium griseofulvum*, *Fusarium graminearum*, *Alternaria alternata*. Доминирующими микромицетами оказались *A. niger*, *P. chrysogenum* и *A. puulaauensis*. Хотя почти все полимеры подвергаются фотостарению при естественном освещении, связанному с содержанием хромофорных групп случайных примесей (пластификаторов, стабилизаторов) в их составе, мы обнаружили, что при отсутствии фотодеструкции в лабораторных испытаниях образцы также частично теряют свои оптические качества (прозрачность, стойкость к истиранию и прочность сцепления полисилоксановых покрытий с органическими стеклами). Этот факт свидетельствует о преимущественном вкладе микромицетов в биоповреждение полисилоксана. Для начального прорастания спор грибов требуется минимальное количество органических субстратов, которые могут присутствовать в естественных условиях в виде поверхностных загрязнений покрытий, а в лабораторных испытаниях – в виде следовых количеств примесей, либо компонентов искусственно добавленной среды Чапека-Докса. Нельзя исключить и возможность гетеротрофной фиксации CO₂, степень которой зависит от наличия легкоразлагаемых источников органического углерода: грибы фиксируют относительно больше CO₂ при более низких концентрациях органического углерода [3]. Основная часть связанного CO₂ (98-99%) обнаруживается

во внеклеточных метаболитах, в то время как только около 1% CO₂ включается в микробные клетки [4]. Вероятно, поэтому биосинтез органических кислот микромицетами происходит даже при слабом их росте на поверхности образцов. Методом газовой хроматографии нами проанализирован спектр органических кислот, синтезируемых *A. niger*, *P. chrysogenum* и *A. puulaauensis*. Все эти грибы способны синтезировать щавелевую, яблочную и лимонную кислоты. Наибольшее количество щавелевой кислоты (410.14±12.30 мг/л) обнаружено в культуральной жидкости *A. puulaauensis*; яблочная (441.73±39.76 мг/л) и лимонная (77.74±5,44 мг/л) кислоты на максимальном уровне продуцировались *A. niger*. Молочную кислоту синтезировали *A. niger* и *A. puulaauensis*. Уксусная кислота в небольшом количестве (0.77±0.07 мг/л) обнаружена в культуральной жидкости *P. chrysogenum*. Винная кислота не была обнаружена. Роль органических кислот в биоповреждении подтверждается тем, что среди всех исследованных грибов, растущих на поверхности полисилоксановых покрытий, доминировал их наиболее активный продуцент – *A. niger*.

В литературе дискуссионным остается вопрос о грибах-дiazотрофах; вопрос об источнике азота для роста грибов на полисилоксане мы не рассматривали, так как рост исследованных микромицетов мог поддерживаться и следовыми количествами азотсодержащих загрязнений, присутствующих в атмосфере [5].

Важными выводами из проведенных экспериментов являются следующие: именно микромицеты являются организмами, вызывающими биоповреждение полисилоксановых покрытий; биосинтез органических кислот служит определяющим фактором начального этапа биоповрежде-

ний; результаты лабораторных испытаний коррелируют с испытаниями в естественных условиях тропиков; созданное полисилоксановое покрытие перспективно для использования на практике, так как сохраняет значительную стойкость к истиранию, прочность сцепления с поверхностью органических стекол и прозрачность всех образцов на уровне более 90% в агрессивных условиях тропиков.

Работа выполнена в рамках Программы Стратегического Академического Лидерства КФУ (приоритет 2030)

Список литературы

1. Martin, K.J.; Rygielwicz, P.T. Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. *BMC Microbiol.* 2005, 5, 28–28.
2. White, T.J.; Bruns, T.; Lee, S.; Taylor, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*; Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J., Eds.; Academic Press Inc.: New York, NY, USA, 1990; pp. 315–322.
3. Schinner, F.; Concin, R.; Binder, H.; Heterotrophic CO₂-fixation by fungi in dependence on the concentration of the carbon source. *Phyton* 1982, 22, 81–85.
4. Šantrůčková, H.; Bird, M.I.; Elhottova, D.; Novák, J.; Píček, T.; Simek, M.; Tykva, R. Heterotrophic fixation of CO₂ in soil. *Microb. Ecol.* 2005, 49, 218–225.
5. Nielsen, T.; Pilegaard, K.; Egeløv, A.H.; Granby, K.; Hummelshøj, P.; Jensen, N.O.; Skov, H. Atmospheric nitrogen compounds: Occurrence, composition and deposition. *Sci. Total Environ.* 1996, 189–190, 459–465.

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ СТЕРОИДОВ ГРИБАМИ-ДЕСТРУКТОРАМИ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ, ИЗОЛИРОВАННЫМИ В ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕЕ

Жгун А.А.¹, Потапов М.П.¹, Авданина Д.А.¹, Карпова Н.В.¹, Ядерец В.В.¹, Джавахия В.В.¹, Кардонский Д.А.²

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт Биоинженерии, Москва

²ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

Трансформация стероидов микроорганизмами широко используется в медицинской биотехнологии. Огромная группа мицелиальных грибов является одним из наиболее перспективных таксонов для скрининга новых биокаталитических реакций с целью получения фармацевтически значимых стероидов.

Ранее мы отобрали свыше 100 микробиологических образцов с экспонатов и поверхностей залов древнерусской живописи в главном здании Государственной Третьяковской галереи (ГТГ, Лаврушинский переулок, 10, Москва) [1]. Мы также охарактеризовали некультивируемые и культивируемые микроорганизмы после метагеномного секвенирования и показали, что большинство изученных микроорганизмов могут культивироваться на стандартных микробиологических средах (номер доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/PRJNA606688/>). После инокуляции культур на специально созданные макеты (с органическими материалами, использованными в темперной живописи) среди разнообразия организмов выявили потенциальных биодеструкторов. Ими оказались 10 мицелиальных

грибов, разрушающих темперную живопись. Эти таксономически неродственные штаммы, принадлежащие к классам Eurotiomycetes, Dothideomycetes и Sordariomycetes, являются доминантными представителями микробиома залов древнерусской живописи ГТГ. В связи с этим данная группа грибов была подробно охарактеризована с точки зрения макроморфологии и микроморфологии, против них подобраны новые эффективные антисептики, которые можно использовать при плановой или экстренной консервации [2–4].

Основным связующим для пигментных красок в темперной живописи является желток куриного яйца. Жидкий яичный желток содержит около 1% холестерина, что является одним из самых высоких показателей в природе; при высыхании темперных красок содержание холестерина возрастает до 2% и более [5,6]. Показано, что в процессе старения произведений темперной живописи появляются модификации холестерина, но они не связаны с деградацией стероидных колец; коровая структура стероидного ядра сохраняется [7]. Кроме того, в составе лаков содержатся

разнообразные тритерпеноиды. Все эти соединения имеют общие биосинтетические пути со стероидами. В связи с этим грибы-деструкторы темперной живописи могут быть перспективным объектом для скрининга биотрансформационной способности фармацевтически значимых стероидов.

В нашей работе провели скрининг 10 мицелиальных грибов-деструкторов яичной темперы на способность к биотрансформации: i) андростендиона (АД, андрост-4-ен-3,17-диона), стероидного гормона со слабым андрогенным действием и одного из важнейших интермедиатов биотрансформации стероидов, и ii) андростадиендиона (АДД, болдион, андроста-1,4-диен-3,17-диона), анаболического андрогенного стероида и важного промышленного предшественника различных стероидных гормонов. Биотрансформационную активность определяли: i) в состоянии роста культур на среде F (г/л: сахара 30, дрожжевой экстракт 5, NaNO₃ 2, (NH₄) H₂PO₄ 3, KCl 0.5, MgSO₄ x 7H₂O, pH 5,5 - 6,0) по отношению к андростендиону (АД) и андростендиону (АДД) и ii) в 0.15 М калий-фосфатном буфере (pH = 6.0) по отношению к АД. Отбор проб проводили через 24, 48, 72 ч после внесения в питательную среду АД и АДД. Стероиды экстрагировали из проб этилацетатом и анализировали методами тонкослойной хроматографии и газовой хромато-масс-спектрометрии. Для идентификации соединений по полученным масс-спектрам использовали базы данных NIST 2014 (DOI:10.1007/s13361-016-1589-4) и Reaxys (<https://www.reaxys.com>). В качестве контроля использовали промышленной штамм *Curvularia lunata* ВКПМ-F981 [8].

Для всех скринированных штаммов мицелиальных грибов выявили способность трансформировать изучаемые стероидные субстраты с той или иной степенью эффективности (то есть, количества переработанного исходного субстрата) и селективности. Наиболее эффективно, на уровне, близком к контрольному штамму *C. lunata* ВКПМ-F981, трансформацию проводили *S. lamellicola* STG-96 и *C. parahalotolerans* STG-93В. Селективную трансформацию показали *A. versicolor* STG-25G и *A. versicolor* STG-86 при трансформации АД в тестостерон. Также селективно трансформировал *M. paisei* STG-103 АДД в тестостерон, ингибитор ароматазы, клинически используемый для лечения эстроген-зависимого рака молочной железы. Найденные активности могут иметь в дальнейшем биотехнологическое применение.

Всего в работе охарактеризовали 33 стероида, образующихся при трансформации АД, для 19-ти из них установили структуру, что позволило охарактеризовать протекающие реакции: i) гидроксильирования в положениях 3α, 3β, 6β, 7α, 11β, 14α и 15α, ii) оксидоредуктазную активность в

положение 17 с образованием тестостерона, iii) 5β редуктазную активность, iv) C-1/C-2 дегидрогеназную активность с образованием андростадиендиона (АДД) и v) другие модификации, связанные как первичной трансформацией АД, так и с последующими модификациями образующихся промежуточных продуктов [9]. Также охарактеризовали 30 стероидов, образовавшихся при трансформации АДД, для 5-ти из них установили структуру.

Таким образом, мы впервые продемонстрировали, что грибы-деструкторы темперной живописи обладают стероид-трансформирующей активностью и являются перспективными микроорганизмами для скрининга биотехнологически-значимых трансформаций стероидов с дальнейшей целью промышленного использования.

Список литературы

- Zhgun A. et al. Detection of potential biodeterioration risks for tempera painting in 16th century exhibits from State Tretyakov Gallery // PLoS One. Public Library of Science (PLoS), 2020. Vol. 15, № 4. P. e0230591.
- Alexandrova L.A. et al. 30-Amino modifications enhance the antifungal properties of N4-alkyl-5-methylcytidines for potential biocides // New J. Chem. The Royal Society of Chemistry, 2022. Vol. 46, № 12. P. 5614–5626.
- Alexandrova L.A. et al. Discovery of novel N4-alkylcytidines as promising antimicrobial agents // Eur. J. Med. Chem. 2021. Vol. 215.
- Zhgun A.A. et al. Search for Efficient Chitosan-Based Fungicides to Protect the 15th–16th Centuries Tempera Painting in Exhibits from the State Tretyakov Gallery // Microbiol. (Russian Fed. 2020. Vol. 89, № 6. P. 750–755.
- Masschelein-Kleiner L. Ancient binding media, varnishes and adhesives. 2nd ed. / ed. Lawrence T. Rome: ICCROM, 1995. 101 p.
- Egg Science and Technology. Fourth Ed / ed. Stadelman W.J., Cotterill O.J. New York: Routledge, 1995. 608 p.
- van den Brink O.F. et al. A direct temperature-resolved tandem mass spectrometry study of cholesterol oxidation products in light-aged egg tempera paints with examples from works of art // Int. J. Mass Spectrom. Elsevier, 2009. Vol. 284, № 1–3. P. 12–21.
- Jaderets V.V. et al. Patent RU2407800C1, C12P33/00, C12P33/06, C12N1/14. Method for preparation 14α-hydroxyderivatives of Δ4-3,17-diketo-androstene. 2010.
- Zhgun A.A. et al. Biotransformation of Androstenedione by Filamentous Fungi Isolated from Cultural Heritage Sites in the State Tretyakov Gallery // Biology (Basel). Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2022. Vol. 11, № 6. P. 883.

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ
Current Mycology in Russia

Том 9

Volume 9

Выпуск 6.
Грибные биотехнологии

Issue 6.
Biotechnology from fungi

Глава 10.
Грибные биотехнологии
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.10

Chapter 10.
Fungal biotechnology
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.10

Глава 11.
**Культивируемые съедобные
и лекарственные грибы**
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.11

Chapter 11.
Cultivable, edible and medicinal fungi
doi: 10.14427/cmr.2022.ix.11

Содержание выпуска 6

Глава 10. Грибные биотехнологии

МИКРОМИЦЕТЫ И БАЗИДИОМИЦЕТЫ, РАСПРОСТРАНЕННЫЕ В УЗБЕКИСТАНЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИСТОЧНИКИ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ ЦЕННЫХ ПРОДУКТОВ ДЛЯ БИОЛОГИЗАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ОТРАСЛЕЙ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА Ахмедова З.Р.	377
ПРОИЗВОДСТВО ХЕРЕСНЫХ ВИН В МИРЕ И КОНЦЕПЦИЯ СКРИНИГА ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ <i>S. CEREVISIAE</i> , ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ХЕРЕСА Авданина Д.А., Жгун А.А.	378
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦЕЛЛЮЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММА <i>IRPEX LASTEUS</i> 1080 ПРИ ТВЕРДОФАЗНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА РАСТИТЕЛЬНЫХ ОТХОДАХ Чемерис О. В.	380
МНОГООБРАЗИЕ ПРИРОДНЫХ 10-ЧЛЕННЫХ ЛАКТОНОВ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ Дубовик В.Р., Далинова А.А., Берестецкий А.О.	382
ПОЛУЧЕНИЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА L-АСПАРАГИНАЗЫ ИЗ ПСИХРОФИЛЬНОГО ГРИБА <i>SCLEROTINIA BOREALIS</i> , АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА ПСИХРОФИЛА Думина, М.В., Жгун, А.А.	383
БИОСИНТЕЗ БЕЛКА И ЦЕЛЛЮЛАЗ МИКРОМИЦЕТАМИ Хамидова Х.М., Азимова Н.Ш., Х.Х.Каримов, Шакиров З.С.	385
ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ АДДИТИВОВ НА РЕФОЛДИНГ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ ПРОТЕАЗЫ МИКРОМИЦЕТА <i>Aspergillus ochraceus</i> ВКМ F-4104D Комаревцев С.К., Осмоловский А.А., Мирошников К.А.	387
ГРИБЫ-АЛКАЛОФИЛЫ - ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК НОВЫХ АНТИБИОТИКОВ Куварина А.Е., Садыкова В.С., Георгиева М.Л., Рогожин Е.А.	388
ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЕЖОВИКА ГРЕБЕНЧАТОГО НА РАЗНЫХ ПО СОСТАВУ СУБСТРАТАХ В УСЛОВИЯХ ИНТЕНСИВНОЙ ТЕХНОЛОГИИ Лавлинский А.В.	389
ПОЛУЧЕНИЕ И ОЦЕНКА ПОЛИКЕТИДОВ ГРИБНОГО СИНТЕЗА С МОСКИТОЦИДНЫМИ СВОЙСТВАМИ Лиховидов В.Е., Александрова А.В.	390
СКРИНИНГ МЕТАБОЛИТОВ БАЗИДИОМИЦЕТОВ И АСКОМИЦЕТОВ С АНТИФУНГАЛЬНОЙ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЯМИ Лысакова В. С., Барашкова А.С., Рогожин Е.А., Синева О. Н., Краснопольская Л. М.	393
ТРЮФЕЛЕВЫЕ ГИБЫ <i>TUBER MACROSPORUM</i> : АНАЛИЗ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА И ПОИСК БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА Моргунова М.М., Малыгина Е.В., Дмитриева М.Е., Бельшенко А.Ю., Имидоева Н.А., Шелковникова Е.В., Аксёнов-Грибанов Д.В.	394
СИНТЕЗ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ МИКРОМИЦЕТАМИ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА МОДИФИЦИРОВАННЫХ СРЕДАХ Насибов Э.М., Гордонова И.К., Никитина З.К.	395
ЭФФЕКТИВНЫЕ ГРИБНЫЕ БИОПРЕПАРАТЫ ДЛЯ БОРЬБЫ С БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И ПОВЫШЕНИЯ ИММУНИТЕТА Нугманова Т.А., Кабаргина М.В., Малюченко О.П., Шелепова О.В., Кондратьева В.В.	398
ПОДБОР ГЕРБИЦИДОВ ДЛЯ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ С ГРИБОМ <i>SALORNOA COMPLANATA</i> ПРОТИВ БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО НА НЕПАХОТНЫХ ЗЕМЛЯХ Павлова Н.А., Берестецкий А.О.	400
МИКОПОЛИМЕРЫ НА ОСНОВЕ АГАРИКОМИЦЕТОВ: РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ Попыванов Д.В.	402
АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ pH-СТАТИРОВАНИЯ НА РОСТ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ РОДА <i>PENICILLIUM</i> И СИНТЕЗА ИМИ ГЛЮКОЗООКСИДАЗ Семашко Т.В., Климович Н.Д., Жуковская Л.А.	402

КСИЛОТРОФНЫЕ БАЗИДИОМИЦЕТЫ СРЕДНЕРУССКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ: ПОИСК АКТИВНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИИ	404
Шахова Н. В., Волобуев С. В.	
СВОЙСТВА БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ НА ОТХОДАХ БРОДИЛЬНОГО ПРОИЗВОДСТВА	405
Шонахунов Т. Э., Ахмедова З. Р., Яхяева М.А. Хамраева З.Т., Гулямова И.Т., Ибрагимов А.А.	
ПОЛУЧЕНИЕ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ LENTINUS TIGRINUS С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СРЕД С НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫМИ ЧАСТИЦАМИ ДРЕВЕСИНЫ	407
Шутова В.В.	
МУЛЬТИКОНВЕРСИОННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЖИДКОФАЗНЫХ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БИОПЕСТИЦИДОВ	410
Титова Ю. А.	
ГРИБНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ РОСТОСТИМУЛЯТОРОВ ПШЕНИЦЫ	412
Цивилева О.М., Шатерников А.Н., Евсеева Н.В., Денисова А.Ю., Ткаченко О.В.	
ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ПОЧВЕННОГО ГРИБА CLONOSTACHYS ROSEA F SATENYLATA V1349 С ДАЛЬНЕЙШИМ ПРАКТИЧЕСКИМ ПРИМЕНЕНИЕМ В КАЧЕСТВЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ	413
Варфоломеева Е.А., Бочкова В.Б.	
ВОЗМОЖНОСТИ МИКРОБНОЙ КОНВЕРСИИ ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОРМОВОГО ПРОДУКТА	417
Хамраева З.Т., Ахмедова З.Р., Шонахунов Т.Э., Гулямова И.Т.	
ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ШТАММА ГРИБА ASPERGILLUS ORYZAE – 5	419
Яхяева М.А.	
НОВАЯ ИНТЕРНЕТ-ПЛАТФОРМА «СУПЕРГРУППЫ ЭУКАРИОТ: ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ/БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНТЕРФЕЙС» И ЕЕ ВОЗМОЖНОСТИ В НАКОПЛЕНИИ ЗНАНИЙ О ДОСТИЖЕНИЯХ В БИОТЕХНОЛОГИИ ГРИБОВ	421
Змитрович И.В., Перелыгин В.В., Жариков М.В.	

Глава 11. Культивируемые съедобные и лекарственные грибы

МЛЕЧНИКИ PP. LACTARIUS PERS. И LACTIFLUUS (PERS.) ROUSSEL НА РЫНКАХ СТРАН МИРА	
Белова Н.В.	
Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург	423
О СОДЕРЖАНИИ МЕТАЛЛОВ И МЕТАЛЛОИДОВ В ПЛОДОВЫХ ТЕЛАХ БЕЛОГО ГРИБА (РОД BOLETUS S. STR.)	424
Иванов А.И.	
ЛЕСНЫХ СООБЩЕСТВАХ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ	426
Мелькумов Г.М., Богатырёва Ю.С.	
УРОЖАЙНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ СЪЕДОБНЫХ ГРИБОВ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ	427
Михалева Л.Г.	
РАСПРОСТРАНЕННЫЕ В АЗЕРБАЙДЖАНЕ СЪЕДОБНЫЕ ВИДЫ КСИЛОТРОФНЫХ МАКРОМИЦЕТОВ И ИХ РЕСУРСНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ	429
Мурадов П.З., Алиева Б.Н., Сеидова Г.М*, Бахшалиева К.Ф.,	
ТЕНДЕНЦИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ЭКСПЛУАТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ЗАГОТАВЛИВАЕМЫХ ВИДОВ ГРИБОВ В БЕЛАРУСИ	432
Шапорова Я.А.	

Глава 10.

Грибные биотехнологии

doi: 10.14427/cmr.2022.ix.10

МИКРОМИЦЕТЫ И БАЗИДИОМИЦЕТЫ, РАСПРОСТРАНЕННЫЕ В УЗБЕКИСТАНЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИСТОЧНИКИ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ ЦЕННЫХ ПРОДУКТОВ ДЛЯ БИОЛОГИЗАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ОТРАСЛЕЙ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

Ахмедова З.Р.

Институт микробиологии АН РУз, Ташкент

В докладе приводятся о научных достижениях лаборатории «Природоохранная биотехнология» института микробиологии АНРУз по направлению грибной биотехнологии.

Важными вопросами также является изучение распространения и экология микроорганизмов, так и антагонистической микрофлоры, подавляющей их жизнедеятельность.

В результате проведенных исследований нами предложен поверхностный способ приготовления биокомпоста надземным способом, позволяющий предотвращения притока жидкости и вторичной инфекции состава компостируемого субстрата, а также анаэробного брожения ценных компонентов соломы и азотистых веществ навоза.

Урожай, собранный из приготовленных образцов биокомпоста на базе «Евро-Фуд-Трайд», «Грин Стар» и «Макс-Нихол» составила 16-18 и 18-20 кг/кв. метров площади.

Разработанные технологии приготовления биологических компостов путем ферментативной конверсии отходов с дальнейшим их использованием в выращивании грибов позволит резко поднять уровень развития и экономики пищевой отрасли, охране окружающей среды, оздоровлению почвы, а также позволит эффективно использовать огромные объемы ежегодно возобновляемых растительных отходов и навозов животноводства.

Эффективность полученных результатов исследования, проведенных в рамках данного проекта внедрена на производство и заключен хозяйственный договор на сумму 13.000.000 сум.

Установлено, что вместо дезактивирующих, дезинфицирующих агентов против гельминтов, патогенов и вредителей, содержащиеся в составе навоза, оказывающие негативное влияние на качество шампиньонов, таких как Формалин, Фунгамил и др. можно использовать хитинолитические, пртеолитически активные жидкости и культуры грибов.

Таким образом, были приготовлены гидролитически активные препараты грибов и актиномицетов в количестве 100, 150, 180 и 200 литров с высокой гидролитической и антибиотической активностями, для биотрансформации полисахаридов соломы, уничтожающие также патогенную микрофлору навозов для использования в производственных условиях. Были приготовлены промышленные образцы биокомпостов в объеме 20, 25 и 50 тонн.

Данный объем был использован для культивирования мицелия гриба на трех ярусных стеллажах, с расходом на

грунтовку по 100 кг/кв/метров с влажностью 57-60 %, с биотрансформацией целлюлозы не более 55-60 %.

Так же в лаборатории была создана экологически безопасная энзимно-органическое удобрение «MICROZYME» - биостимулятор роста и развития растений на основе мицелиальных грибов.

Установлен эффективность применения «MICROZYME-2» в возделывании хлопчатника, пострадавших от наводнения. Урожайность средняя по оценке выхода хлопка сырца показало, что прибавка к урожайности в целом составляет 3,7-4,6 ц/га.

Помимо стимулирующей и улучшающей свойства почвы, приводящий к увеличению плодородности почвы, использование «MICROZYME» способствовала сокращению объемов полива, т.к. орошение было проведено всего один раз во время вегетативного роста и однократным опрыскиванием во время плодоношения.

Что касается биологической активности, то исходная почва имела очень скудный состав микроорганизмов, относящиеся к различным таксономическим группам.

Обработка семян сельскохозяйственных культур протравителями семян является одним из важных этапов получения дружных всходов культур. В основном, для этих целей используют импортные средства защиты растений, в состав которых входят токсичные химические вещества, такие как Бронтакс, Витовакс и др. Эти импортные препараты дорогие, применение их приводит к загрязнению экосистемы, микрофлоры, уничтожает полезные почвенные микроорганизмы.

Следовательно, полученные нами экспериментальные данные показали, что экологически безопасный препарат «MICROZYME-2» вполне можно использовать в качестве стимулятора, биоудобрения в возделывании хлопчатника.

Была изучена стабильность биопрепарата «MICROZYME-2», приготовленного с использованием грибов *Aspergillus terreus* 9, *Pleurotus ostreatus*, *Aspergillus oryzae* -5 и *Streptomyces sp.* 166 в промышленных условиях с использованием после спиртовой барды т.е. в течение года со дня изготовления.

Активность ферментов целлюлазы, ксиланазы, количество белка (5,6 мг/мл), а-амилазы (76,3 ед/мл), протеазы (1,7 ед/мл) оставалась почти неизменной. Данные образцы также не теряли антибиотическую и ростостимулирующую активность, что было доказано в опытах против фитопатогенов грибов рода *Fusarium*.

В целом, проведенные исследования показали об эффективности применения «MICROZYME-2» в возделывании хлопчатника, пострадавших от наводнения. Самым главным фактором является то, что использование биоудобрения серии «MICROZYME» привело к устойчивости растений хлопчатника к засоленности, т.к. изучаемые почвы и посевные поля под хлопчатник относились к сильно засоленным почвам, причем сульфатного и хлоридного типа.

Биопрепарат можно использовать для быстрой всхожести и прорастания семян, для устойчивости растений к болезням, а также для сокращения сроков созревания урожая и качество ожидаемого продукта, в целом на плодородие почвы и др.

В совокупности полученных данных заложено новое направление – энзимо биотехнология возделывания хлопчатника, обладающий высокой эффективностью и продуктивностью перед существующей технологией, что является предпосылкой биологизации сельского хозяйства и введение органической земледелия, исключая минеральные удобрения на 50 %.

Широкая сфера деятельности энзимов в составе «MICROZYME», дешевизна их получения из микроорганизмов, управляемый синтез и гидролиз энзимами, биологически активными веществами диктует о необходимости продолжения исследований в данной области и глубокому анализу данной аргументации энзимотехнологии.

Впервые в районах наводнения Сырдарьинского вилоята гидролазы и фитогормоны ксилотрофов, анти-

биотические вещества местных штаммов актиномицетов, входящих в состав «MICROZYME-1» были использованы осенью 2021 года для предпосевной обработки семян пшеницы с общей площадью 150 гектар.

Целью данной части работы было - интенсификации всхожести, прорастания, роста и развития, от которых также ожидается защита растений от болезнетворных фитопатогенов (особенно в осенний период влажности и низкой температуры), далее и улучшение плодородия и гумусного слоя почвы путем дополнительной биодegradации растительных отходов (солома, корни пшеницы и др. трав), остающиеся в посевных площадях и др., от которых ожидается решение также множества задач и научно-практических вопросов охраны окружающей среды.

Оказалось, что внедрение экологически безопасного биопрепарата серии «MICROZYME» приведёт в первую очередь к сохранению посеянных семян, сокращению сроков вегетативного роста культур, обеспечит 95-100% всхожести семян, далее приводит к интенсификацию метаболических процессов протекающих в семенах и в разных частях растений, снижает заболеваемость как посеянных семян, так и растущих культур, обогащает почву источниками углерода, азота, макро- и микроэлементами, снижает засоленность почвы, сокращает нормы употребления минеральных удобрений, а самое главное является альтернативным способом возделывания сельхоз культур перед эталонными, заграничными препаратами, являющиеся менее эффективной и дорогой перед биопрепаратами серии «Микрозим» отечественного производства.

ПРОИЗВОДСТВО ХЕРЕСНЫХ ВИН В МИРЕ И КОНЦЕПЦИЯ СКРИНИГА ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ *S. CEREVISIAE*, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ХЕРЕСА

Авданина Д.А., Жгун А.А.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт Биоинженерии им. К.Г. Скрябина, Москва

При совершенствовании производства вин перспективным подходом является селекция штаммов дрожжей с учётом особенностей региональной сырьевой базы – сортов винограда, географии, состава почв и др. Херес или шерри – это особая группа крепленых вин, изначально производимых в Испании из различных сортов белого винограда. Традиционно торговая марка вина «Jerez-Xères-Sherry» и «Manzanilla-Sanlúcar de Barrameda» является контролируемой по происхождению регионом *Andalusia* [1,2]. В мае 2021 г. комитетом, регулирующим права производителей хересных вин в Испании [3], был принят ряд поправок и допущений в технологии производств хереса, открывающий новые возможности для виноделов в области совершенствования органолептических свойств этих вин. В Испании хересные вина подлежат четкой градации. Основными типами классических сухих хересных вин являются Fino, Oloroso и Amontillado, а также Manzanilla и Palo Cortado, которые получают из одного и того же базового вина, но подвергают разным процедурам старения [4]. Также существуют купажированные вина - *Dry, Pale Cream, Medium, and Cream* и натуральные сладкие хересы - *Pedro Ximénez, Moscatel, and Dulce*.

Кроме Испании хересные вина, имеющие сертификат подлинности происхождения *Denominación de Origen*, изготавливаются в Италии (Сардиния), Франции (Юра), Венгрии (Токай-Хегая). Также хересоподобные вина произ-

водятся в США, Австралии, Южной Африке, Армении, на Кипре - благодатных краях с климатом, способствующим росту и созреванию виноградной лозы. Также в Британии из импортированного виноградного сусла производят популярные Шерри «Harveys». С начала XX в. вина такого типа производятся и в России. В настоящее время известны хересные вина, производимые на Таманском полуострове, в Ростовской области, в Республике Дагестан. В Республике Крым в Научно-исследовательском институте виноградарства и виноделия «Магарач» и на производственно-аграрном объединении «Массандра» (г. Ялта) ведутся многочисленные научные работы, направленные на изготовление и улучшение качеств крепленых вин, в том числе и хереса [5–7]. Хересный сорт белого вина производится и в Украине на заводе Shabo в Одессе. Также своими хересными винами *Ialoveni* известна Молдова, работа по созданию которых начиналась в тесном сотрудничестве с основателями этого производства из СССР [8,9].

Херес – это вино с уникальными органолептическими свойствами и особой технологией изготовления с привлечением дрожжей *S. cerevisiae*, обладающих специфическим свойством флоатировать и образовывать плотную пленку на поверхности виноматериала. Существует два основных способа технологии получения хересных вин – это биологическое старение вина (под дрожжевой пленкой, тип Fino) и окислительное старение (после крепления винома-

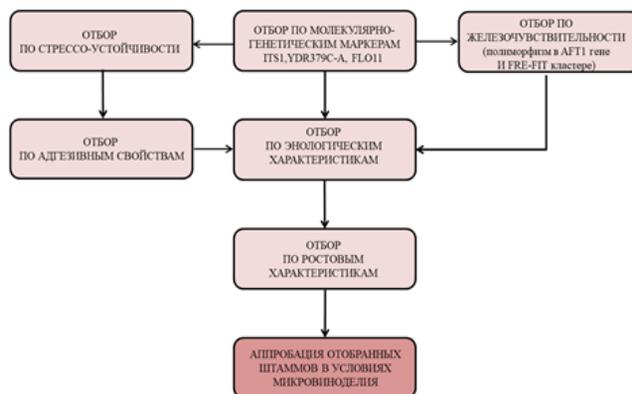
териала этанолом и исчезновение плёнки, тип Oloroso) [4]. Старение вина происходит в динамической многоярусной системе «criaderas – solera» [10,11] в дубовых бочках. Хорошо известно, что уникальность хересных дрожжей *S. cerevisiae* определяется совокупными факторами, одними из которых являются делеция 24 bp или инсерция «С» в регионе ITS1 [12]; делеция размером 111 п.н. в промоторе гена FLO11 (клеточный адгезин, отвечающий за агрегацию клеток и формирование плёнки) [13].

Всё больше появляется виноделен, внедряющих достижения современной науки в технологию производства вин, в том числе и хереса. Так методы молекулярной биологии и генетической инженерии позволяют контролировать изменения в экспрессии многочисленных генов у *S. cerevisiae*, вовлечённых в клеточную адгезию, стрессоустойчивость, поглощение железа, в метаболизм азота, углерода и жиров, и т.д., определяющие специфику функционирования хересных дрожжей. Такой современный подход к пониманию

адаптационного механизма дрожжей *S. cerevisiae* позволяет разработать удобные генетические маркеры для определения стратегий направленного отбора новых природных штаммов, пригодных для хересования при развитии этой отрасли производства.

На основании ряда работ [7,14,15] предложена схема [16] (Рис. 1.) многоступенчатого отбора штаммов-кандидатов хересных дрожжей в коллекционных культурах и среди изолятов из окружающей среды, включающая комбинированное скринирование по молекулярно-генетическим маркерам, ITS1+YDR379C-A+FLO11, эннологическим маркерам, ростовым характеристикам, с определением стрессоустойчивости, адгезивности клеток и способности к поглощению ими железа из среды. Такая схема поможет достаточно точно определить новые штаммы дрожжей сахаромецетов и внедрить их в новое производство или совершенствовать уже имеющийся процесс.

Рис. 1. Схема отбора штаммов дрожжей *S. cerevisiae* - кандидатов для изготовления хересных вин [16].



Список литературы

- Sanchez C.. The Big Book of Sherry Wines. The Region / ed. Sanchez C.S. Regional Ministry of Agriculture and Fisheries, 2006. 323 p.
- Ruiz-Muñoz M. et al. Improving an Industrial Sherry Base Wine by Yeast Enhancement Strategies // Foods 2022, Vol. 11, Page 1104. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2022. Vol. 11, № 8. P. 1104.
- sherrynotes.com. [Electronic resource]. 2021. URL: <https://www.sherrynotes.com/2021/background/new-regulations-do-jerez-xeres-sherry/> (accessed on 10.06.2022).
- Pozo-Bayón M.A., Moreno-Arribas M. V. Sherry Wines: Manufacture, Composition and Analysis // Encycl. Food Heal. Elsevier Inc., 2016. P. 779–784.
- Kishkovskaia S.A. et al. Flor Yeast Strains from Culture Collection: Genetic Diversity and Physiological and Biochemical Properties // Appl. Biochem. Microbiol. Maik Nauka Publishing / Springer SBM, 2017. Vol. 53, № 3. P. 359–367.
- Kerbets N.V. Characterization of Sherry Yeast Strains to be Used for Alcohol Fermentation of Must and for Pure Culture Film Sherrization of the Resulting Wine Material // Vitic. Winemak. Rus. 2014. Vol. 3. P. 29–30.
- Kishkovskaia S.A. et al. Screening for Promising Yeast Strains for Sherry Wine Production Using Genetic and Enological Markers // Sel'skokhozyaistvennaya Biol. Russian Academy of Agricultural Sciences, 2021. Vol. 56, № 3. P. 537–548.
- Saenko, N.F., Kozub, G.I., Averbukh B.Y., Shur I.M. Vино Kheres i Tekhnologiya Ego Proizvodstva (Sherry and Technology for Its Production). Kartya Mol. Chisinau, 1975. 160 p.
- Kozub G.I. Fine and Sparkling Wines of Moldova. Kartya Mol. Chisinau, 1983. 275 p.
- Ruiz-Muñoz M. et al. Rethinking About Flor Yeast Diversity and its Dynamic in the “Criaderas and Soleras” Biological Aging System // Food Microbiol. Academic Press, 2020. Vol. 92. P. 103553.
- Valcárcel-Muñoz M.J. et al. Analytical and Chemometric Characterization of Fino and Amontillado Sherries During Aging in Criaderas y Solera System // Molecules. 2022. Vol. 27, № 2.
- Charpentier C. et al. French Jura Flor Yeasts: Genotype and Technological Diversity // Antonie van Leeuwenhoek, Int. J. Gen. Mol. Microbiol. Antonie Van Leeuwenhoek, 2009. Vol. 95, № 3. P. 263–273.
- Fidalgo M. et al. Adaptive Evolution by Mutations in the FLO11 Gene // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2006. Vol. 103, № 30. P. 11228–11233.
- Eldarov M.A. et al. Stress Resistance and Adhesive Properties of Commercial Flor and Wine Strains, and Environmental Isolates of *Saccharomyces cerevisiae* // Fermentation. MDPI, 2021. Vol. 7, № 3.
- Eldarov M.A. et al. Polymorphism of the Iron Homeostasis Genes and Iron Sensitivity in *Saccharomyces cerevisiae* Flor and Wine Strains // Microbiol. (Russian Fed. Pleiades Publishing, 2019. Vol. 88, № 2. P. 200–205.
- Avdanina, D. A., Zghun A.A. Sherry Wines: Worldwide Production, Chemical Composition and Screening Conception for Flor Yeasts // Fermentation. 2022. Vol. 8. P. 381.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦЕЛЛЮЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММА *IRPEX LACTEUS* 1080 ПРИ ТВЕРДОФАЗНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА РАСТИТЕЛЬНЫХ ОТХОДАХ

Чемерис О. В.

ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», г. Донецк, ДНР

Твердофазное культивирование стало альтернативой традиционному глубинному способу культивирования. Наиболее важным критерием твердофазной ферментации является выбор подходящего субстрата. Твердый материал выполняет функцию физической поддержки и источника питательных веществ для продуцента. В качестве субстратов в процессах твердофазного культивирования могут быть использовано малоценное вторичное растительное сырье – отходы агропромышленного комплекса и деревообрабатывающей промышленности [1, 2].

В биотехнологических процессах ферментативной конверсии растительных отходов способность базидиомицетов разлагать биополимеры и различные виды растительного сырья не реализована в полном объеме. В последнее время стали активно исследоваться компонентный состав целлюлаз и физиолого-биохимические особенности их биосинтеза высшими грибами *Irpex lacteus* [3], *Rychnoporus coccineus* и *Schizophyllum commune* [4], *Trametes versicolor* и *Phanerochete chrysosporium* [5]. Однако низкое количество синтезируемого фермента данными продуцентами требуют проведения исследований по увеличению синтеза ферментов целлюлазного комплекса путем использования дешевого лигноцеллюлозного сырья в качестве субстратов (индукторов) и оптимизация условий культивирования.

Целью данного исследования было изучение влияния разных видов растительных отходов на биосинтез целлюлаз штаммом гриба *I. lacteus* 1080 при твердофазном культивировании.

Штамм *I. lacteus* 1080 хранится в коллекции культур кафедры физиологии растений ГОУ ВПО «ДОННУ» и в Коллекции культур шляпочных грибов Института ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины (ИВК). Штамм *I. lacteus* 1080 культивировали в колбах Эрленмейера объемом 100 мл в течение 30 суток при температуре 32° С. В качестве субстрата использовали растительные отходы – пшеничную солому (размер частиц 5-7 мм), воздушно-сухие опилки хвойных пород (размер частиц 2-3 мм) и яблони (размер частиц 5-7 мм). Внеклеточные ферменты целлюлолитического действия экстрагировали 20 мл холодной дистиллированной воды. Экстракцию проводили в течение 1 ч. Полученную культуральную жидкость центрифугировали

при 3 000 об/мин в течение 5 мин для удаления частиц субстрата и мицелия. Активность ферментов целлюлазного комплекса определяли в культуральной жидкости штамма *I. lacteus* 1080 через каждые 5 суток, начиная с 5-х по 30-е сутки культивирования.

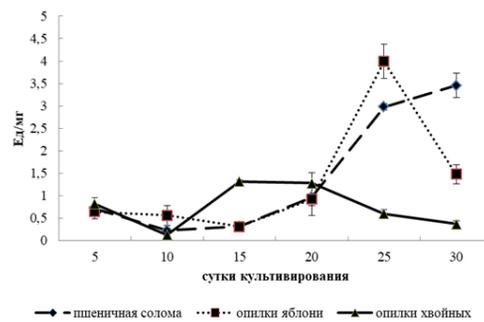
Активность ферментов целлюлолитического комплекса штамма *I. lacteus* 1080 определяли относительно таких субстратов: фильтровальная бумага (Filtrak, плотность 90 г/м²) – общая целлюлолитическая активность, Na-карбоксиметилцеллюлоза (C5678, Sigma, США) – эндо-глюканазная активность. Состав реакционных смесей для определения целлюлолитической активности и условия проведения реакций соответствовали общепринятым методикам [6, 7, 8]. За единицу целлюлолитической активности (Ед) принимали такое количество фермента, которое образовывало 1 μmol редуцирующих сахаров на протяжении 1 мин в условиях опыта ($t=+37^\circ\text{C}$, pH 5,0). Удельную активность (Ед/мг) определяли отношением общей активности культуральной жидкости (Ед/мл) к содержанию белка в культуральной жидкости (мг/мл). Редуцирующие сахара определяли методом Шомодьи-Нельсона (калибровочный график строили по глюкозе) [6, 7, 8, 9].

Содержание белка в культуральной жидкости определяли по методу Бредфорда [10].

Исследования проводили в трехкратной повторности. Статистическую обработку полученных данных осуществляли методом дисперсионного анализа качественных и количественных признаков, а сравнение средних арифметических величин – по критерию Дункана [11].

На рисунке 1 представлена удельная целлюлолитическая активность относительно фильтровальной бумаги штамма *I. lacteus* 1080 при твердофазном культивировании на растительных отходах. Максимальные значения активности целлюлаз отмечены на 25-е сутки культивирования штамма на древесных опилках яблони на уровне ~4,0 Ед/мг и на 30-е сутки культивирования на пшеничной соломе на уровне ~3,5 Ед/мг. При использовании опилок хвойных пород целлюлолитическая активность относительно фильтровальной бумаги штамма *I. lacteus* 1080 была значительно ниже.

Рис. 1 – Удельная целлюлозолитическая активность относительно фильтровальной бумаги штамма *Irpex lacteus* 1080 при твердофазном культивировании на растительных отходах

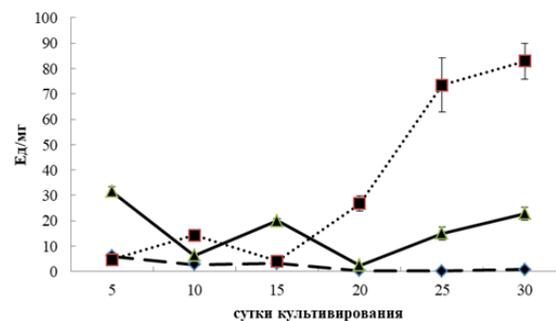


На рисунке 2 представлена удельная целлюлозолитическая активность штамма *I. lacteus* 1080 относительно Na-карбоксиметилцеллюлозы при твердофазном культивировании на растительных отходах. На 5-е сутки твердофазной ферментации наиболее высокие значения эндоглюканазной активности штамма наблюдались при использовании хвойных опилок. Дальнейшее культивирование продуцента на данном виде субстрата не приводило к значительному повышению активности эндоглюканаза.

Использование опилок яблони в качестве субстрата привело к значительному повышению эндоглюканазной активности на 20-е сутки культивирования штамма *I. lacteus* 1080. Максимальные значения ферментативной активности отмечены на 25-30-е сутки культивирования продуцента.

При использовании пшеничной соломы синтез эндоглюканаза штаммом *I. lacteus* 1080 осуществлялся на минимальном уровне.

Рис. 2 – Удельная целлюлозолитическая активность штамма *Irpex lacteus* 1080 относительно Na-карбоксиметилцеллюлозы при твердофазном культивировании на растительных отходах



Таким образом, при твердофазном культивировании штамма *I. lacteus* 1080 в качестве индукторов ферментов целлюлазного комплекса могут быть использованы исследованные виды субстратов. Однако с целью получения эндоглюканаза предпочтительнее культивировать штамм *I. lacteus* 1080 на опилках яблони.

Список литературы

1. Соболева С. В., Ю. А. Литовка Переработка послеэкстракционного остатка коры осины с получением кормовых продуктов // Химия растительного сырья. 2011. № 2. С. 83–86.
2. Чемерис О. В. Целлюлозолитическая активность штаммов *Irpex lacteus* (Fr.) Fr. при твердофазном культивировании на пшеничной соломе // Промышленная ботаника. 2021. Вып. 1, № 1. С. 28–35.
3. Giorgio E. M., Villalba L. L., Robledo G. L., Zapata P. D., Saparrat M. C. N. Cellulolytic ability of a promising *Irpex lacteus* (Basidiomycota: Polyporales) strain from the subtropical rainforest of Misiones province, Argentina // Rev. Biol. Trop. 2018. Vol. 66, N 3. P. 1034–1045.
4. Volpini A. F. N., Thomazine T., Umeo S. H., Pereira G. A., Linde G. A., Valle J. S. et al., Identification and characterization of genes related to cellulolytic activity in basidiomycetes // Genet. Mol. Res. 2016. Vol. 15, N 3. P. 1–8. doi:10.4238/gmr.15038722.
5. Machado A. S., Valadares F., Silva T. F., Milagres A. M. F., Segato F., Ferraz A. The secretome of *Phanerochaete chrysosporium* and *Trametes versicolor* grown in microcrystalline cellulose and use of the enzymes for hydrolysis of lignocellulosic materials // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2020. Vol. 8. P. 1–15.
6. Синицын А. П., Гусаков А. В., Черноглазов В. М. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов: уч. пособие. М.: Изд-во МГУ, 1995. 224 с.
7. Синицын А. П., Черноглазов В. М., Гусаков А. В. Методы изучения и свойства целлюлозолитических ферментов // Итоги науки и техники. Сер. Биотехнология. 1993. Т. 25. 152 с.
8. Ghose T. K. Measurement of cellulase activity // Pure Appl. Chem. 1987. Vol. 59, N 2. P. 257–268.
9. Nelson N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of sugars // J. Biol. Chem. 1944. Vol. 153, N 2. P. 375–379.
10. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254.
11. Приседський Ю. Г. Статистична обробка результатів біологічних експериментів : навч. посібник. Донецьк : Кассіопея, 1999. 210 с.

МНОГООБРАЗИЕ ПРИРОДНЫХ 10-ЧЛЕННЫХ ЛАКТОНОВ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Дубовик В.Р., Далинова А.А., Берестецкий А.О.

ФГБНУ Всероссийский институт защиты растений, Санкт-Петербург.

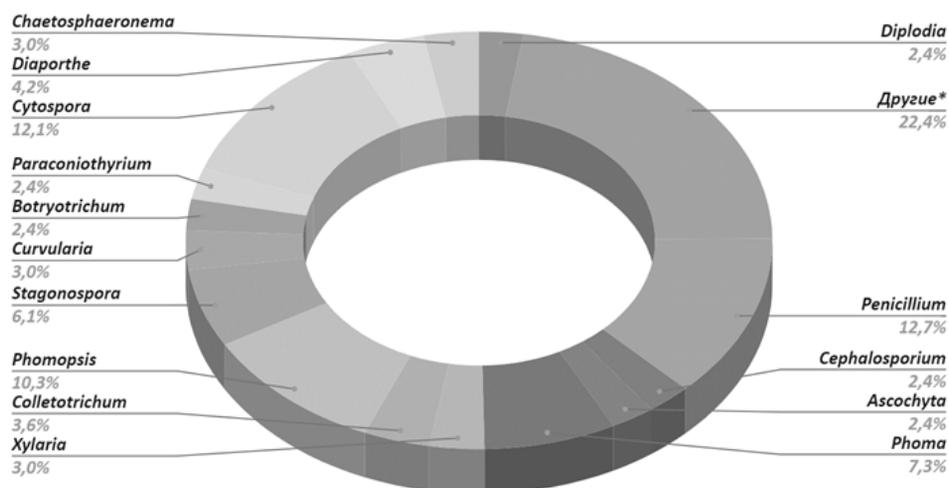
Микроорганизмы являются неиссякаемым источником разнообразных биологически активных вторичных метаболитов, которые могут служить потенциальными базовыми структурами для действующих веществ средств защиты растений и лекарственных средств. 10-членные лактоны – уникальная группа природных соединений, образуемых преимущественно микромицетами. Эти молекулы привлекают внимание исследователей со всего мира, так как при наличии достаточно простой химической структуры эти соединения проявляют широкий спектр биологической активности – фитотоксической, фунгицидной, цитотоксической и др. Но, несмотря на широкое распространение и множество описанных соединений, 10-членные лактоны остаются малоизученным классом природных соединений. Случайное открытие этих соединений научными группами с различными интересами во всем мире привело к разрозненной информации об их биологической активности. Многие представители класса проявляют гербицидную активность – гербарумин I, стагонолиды А, К [1]. Однако исследований, посвященных взаимосвязи структуры и активности 10-членных лактонов крайне мало. Для выявления возможных фитотоксичных представителей класса необходимо обобщить информацию об известных соединениях и их биологической активности.

В истории изучения природных 10-членных лактонов известно две обзорные работы авторов Dräger et al. (1996)

и Sun et al. (2012). Благодаря совершенствованию методов очистки и идентификации веществ темпы опубликования структур новых природных соединений сильно возросли. За десятилетие (2012-2021 гг.), прошедшее с момента опубликования последнего обзора, в литературе нами было обнаружено еще 68 новых природных 10-членных лактона. Проведенный нами литературный анализ более двухсот представителей класса показал, что основными продуцентами 10-членных лактонов являются грибы, среди которых одну из лидирующих позиций занимают фомоидные грибы (рисунок 1). К сожалению, большинство фомоидных грибов, продуцирующих 10-членные лактоны, были идентифицированы только до родового уровня, и соответствующие публикации не содержали никакой идентификационной информации. Особенно это касается статей, опубликованных до 2000-х годов. Поэтому крайне сложно сопоставить идентификацию упомянутых в них продуцентов лактонов с современной систематикой фомоидных грибов.

Биологическая активность более 12% всех описанных 10-членных лактонов осталась неизученной, 44% соединений оценивали только на один тип активности, и только для 15% всех описанных в литературе веществ проводилось масштабное исследование биологической активности с привлечением более трех различных биотестов. Таким образом, мы оценили масштаб пробелов в изучении биологической активности 10-членных лактонов.

Рис. 1 – Грибы как источник 10-членных лактонов.



*Другие (<2%): *Achaetomium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Cordyceps*, *Corynespora*, *Fusarium*, *Gilmaniella*, *Helminthosporium*, *Hypocrea*, *Paraphaeosphaeria*, *Pestalotiopsis*, *Podospora*, *Polyporus*, *Pseudopestalotiopsis*, *Pyrenophora*, *Seimatosporium*, *Sporormiella*, *Trichoderma*, *Tubercularia*

Проведенный нами ранее анализ взаимосвязи структура-активность (SAR) в пределах класса 10-членных лактонов позволил выявить структурные особенности, обуславливающие их высокую фитотоксическую активность

[4]. В свою очередь, обобщение информации о структурах опубликованных представителей семейства продемонстрировало целесообразность оценки фитотоксической активности таких малоизученных 10-членных лактонов как

дипортеолиды А, В [5], беллидисин D [6], гербарумин II [7]. Перечисленные соединения являются структурными аналогами известных фитотоксинов этого класса и могут представлять интерес как базовые структуры для новых гербицидов.

Работа поддержана грантами РФФ 20-74-00093 и 22-16-00038.

Список литературы

1. Dubovik, V., Dalinova, A., Berestetskiy, A. Effect of Adjuvants on Herbicidal Activity and Selectivity of Three Phytotoxins Produced by the Fungus, *Stagonospora cirsi* // *Plants*. – 2020. – V. 9(11). – P.1621.
2. Dräger, G., Kirschning, A., Thiericke, R., & Zerlin, M. Decanolides, 10-membered Lactones of Natural // *Natural products reports*. – 1996. – V. 13. – P. 365–375.
3. Sun, P., Lu, S., V. Ree, T., et al. Nonanolides of Natural Origin: Structure, Synthesis, and Biological Activity //

Current Medicinal Chemistry. – 2012. – V. 19. – P.3417–3455.

4. Dalinova, A., Fedorov, A., Dubovik, V., et al. Structure–Activity Relationship of Phytotoxic Natural 10-Membered Lactones and Their Semisynthetic Derivatives // *J. Fungi*. – 2021. – V. 7, 829.
5. Liu, Y., Cheng, L., & Shen, Y. Two New Nonanolides from *Diaporthe* sp. SXZ-19, an Endophytic Fungus of *Camptotheca Acuminata* // *Chemistry & Biodiversity*. – 2021. – V. 18(5).
6. Wang, W.-X., Zheng, M.-J., Li, J., Feng, T., Li, Z.-H., Huang, R., Liu, J.-K. Cytotoxic polyketides from endophytic fungus *Phoma bellidis* harbored in *Tricyrtis maculate* // *Phytochemistry Letters*. – 2019. – V. 29. – P. 41–46.
7. Rivero-Cruz, J. F., Macías, M., Cerda-García-Rojas, C. M., & Mata, R. A New Phytotoxic Nonanolide from *Phoma herbarum* // *Journal of Natural Products*. – 2003. – V. 66(4). – P. 511–514.

ПОЛУЧЕНИЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА L-АСПАРАГИНАЗЫ ИЗ ПСИХРОФИЛЬНОГО ГРИБА *SCLEROTINIA BOREALIS*, АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА ПСИХРОФИЛА

Думина, М.В., Жгун, А.А.

Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, Москва

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

L-аспарагиназа (L-АСП) – важный для биотехнологии фермент, применяемый в онкогематологии, при создании биосенсоров, а также в технологиях пищевых производств. Основными недостатками применяемых на данный момент L-АСП являются низкая субстратная специфичность и недостаточная стабильность [1].

Известно, что L-АСП широко распространены в природе, характеризуются варьированием структурно-функциональных и биохимических свойств. Этим объясняется непрерывный поиск новых источников перспективных L-АСП с повышенной специфичностью действия, активностью и стабильностью.

L-АСП выделены и охарактеризованы у множества бактерий, архей, дрожжей, мицелиальных грибов, животных, растений [2,3]. Среди различных микроорганизмов особый интерес представляют экстремофилы, выступающие естественным источником многих высокостабильных ферментов с широкими перспективами применения в биотехнологии [4,5]. Поскольку проблема стабильности, активности мезофильных L-АСП является одной из ключевых, усилия в данном исследовании были сфокусированы на характеристике нового «экстремофильного» гомолога этих ферментов из психрофильного гриба *Sclerotinia borealis*.

Sclerotinia borealis – аскомицет, способный обитать на поверхности почвы под снегом и развиваться при температурах до -2 – -3°C . Оптимальный рост этого психрофильного гриба наблюдается при -1°C [6], он также способен расти в условиях повышенной сухости [7]

Интерес к психрофильным L-АСП связан с тем, что реакции, катализируемые психрофильными ферментами, термодинамически характеризуются низкой энергией активации. При этом активные сайты таких белков, как правило, больше и доступнее для субстрата. В результате их удельная активность может быть в 10 и более раз выше, чем для мезофильных гомологов при температуре 20 – 30°C

[8]. Для исследования выбрали психрофильный гриб *S. borealis*, являющийся эукариотическим микроорганизмом. Полагают, что L-АСП эукариотического происхождения потенциально менее иммуногенны для человека и имеют перспективы для разработки препаратов с улучшенным профилем безопасности [9].

Цель работы – получение рекомбинантных штаммов *E.coli*, экспрессирующих L-АСП психрофильного гриба *S. borealis*, исследование специфической активности рекомбинантного фермента.

Материалы и методы: для поиска и анализа последовательностей применяли методы биоинформатического анализа. При создании рекомбинантного штамма использовали стандартные гено-инженерные подходы. Влияние на ферментативную активность L-АСП температуры, pH оценивали по методу прямой несслеризации на препаратах неочищенных экстрактов

Результаты и обсуждение: филогенетический анализ на основе белковых последовательностей показал, что L-АСП психрофильного гриба *S. borealis* F-4128 (SbA) кластеризуется с L-АСП грибного происхождения, относящимися к *Botrytis* sp., *Molinitia* sp. и *Aspergillus* sp. Уровень идентичности данных L-АСП составляет 91–78 %. При этом сравнение SbA с подробно изученными L-АСП экстремофильного и мезофильного происхождения показало низкий уровень гомологии, не превышающий 27 %. Согласно данным анализа, наиболее близкие идентифицируемые гомологи для изучаемой SbA – ранее неохарактеризованные L-АСП, основными источниками которых являются некультивируемые штаммы микроорганизмов.

Гетерологическую экспрессию L-АСП психрофильного гриба проводили в клетках мезофильной бактерии *E. coli* BL21(DE3) под контролем промотора гена 10 фага T7 в составе вектора pET-28a(+). На первом этапе создали конструкции для экспрессии нативного гена *sbA*. При

культивировании рекомбинантного штамма в стандартных условиях (индукция 0.2 %-ой лактозой при OD600 = 1.0) активность L-АСП не обнаруживалась. Поскольку оптимизация условий экспрессии (по температуре культивирования, оптической плотности клеток при добавлении индуктора, концентрации и типу индуктора) не позволила получить активную форму фермента, провели оптимизацию кодонового состава кодирующей последовательности для экспрессии в клетках *E. coli*.

В ходе частичной замены редких для данного микроорганизма минорных кодонов на синонимичные мажорные кодоны получили синтетический вариант гена, кодирующий SbA аналогичного аминокислотного состава. Оптимизированную последовательность для L-АСП из психрофильного гриба *S. borealis* F-4128, депонированную в Genbank под номером доступа MW699184, синтезировали и использовали для создания генно-инженерной конструкции на базе вектора pET-28a(+) для экспрессии в клетках *E. coli* BL21(DE3). Полученный таким образом рекомбинантный штамм Sb2, экспрессирующий модифицированную sbAmod, проявлял L-аспарагиназную активность. В оптимизированных условиях культивирование штамма Sb2 проводили при температуре 24°C, в качестве индуктора добавляли лактозу при OD600 = 0.5 до конечной концентрации 0.2 %.

Таким образом, оптимизация нуклеотидной последовательности позволила провести гетерологическую экспрессию неизученной ранее психрофильной L-АСП грибов. Следует отметить, что источниками белков экстремофильного происхождения часто являются микроорганизмы, некультивируемые либо требующие особых условий культивирования, экспрессии целевого белка, что существенно осложняет возможность как их изучения, так и возможного биотехнологического получения. В частности, для роста изучаемого психрофильного гриба *S. borealis* необходимы пониженные температуры [15]. Для характеристики L-АСП таких грибов могут быть использованы рекомбинантные штаммы на базе *E. coli*. В случае L-АСП грибного происхождения для экспрессии в клетках *E. coli* в нашей работе потребовалась предварительная оптимизация кодонового состава. Рекомбинантный штамм Sb2, экспрессирующий синтетический вариант нуклеотидной последовательности L-АСП sbAmod, использовали для последующей характеристики ферментативной активности этого белка.

Активность гетерологично экспрессируемой L-АСП психрофильного гриба оценивали методом прямой неселеризации при различных экспериментальных условиях – температуре и pH. Активность SbA составила 0.2–0.6 МЕ/мл. При этом наилучшие показатели активности L-АСП из *S. borealis* F-4128 наблюдали при 24°C и щелочных pH (pH 9.6). Эти результаты согласуются с ранее полученными данными по активности L-АСП психрофильных мицелиальных грибов, изолированных на острове Кинг-Джордж (Антарктика) [10]. При культивировании 42-х представителей мицелиальных грибов, относящихся к родам *Geomyces*, *Pseudogymnoascus*, *Cosmospora*, *Hypocrea*, *Cadophora*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Pseudeurotium*, *Oidiodendron* и *Acremonium*, их активность варьировала в диапазоне 0.2–1.45 МЕ/мл [10].

Таким образом, в настоящей работе представлены результаты гетерологической экспрессии ранее неохарактер-

изованной L-АСП экстремофила – психрофильного гриба *S. borealis*. Для экспрессии L-АСП грибного происхождения в реципиентном штамме *E. coli* потребовалась оптимизация кодонового состава ее нуклеотидной последовательности.

В предварительном скрининге на неочищенном экстракте максимальное значение специфической активности для SbA составило 0.6 МЕ/мл при 24°C и pH 9.6. Несмотря на низкую активность SbA из психрофильного гриба, близкие значения ранее были получены для L-АСП психрофильных грибов (0.2–1.45 МЕ/мл) [10].

Полученные в работе результаты создают предпосылки для дальнейшего изучения свойств и кинетических характеристик L-АСП психрофильного гриба *S. borealis*, возможности биомедицинского применения данного фермента.

Список литературы

1. Dumina M V., Eldarov MA, Zdanov DD, Sokolov NN. L-Asparaginases of Extremophilic Microorganisms in Biomedicine. *Biochem Suppl Ser B Biomed Chem* 2020;14. <https://doi.org/10.1134/S1990750820040046>.
2. Krishnapura PR, Belur PD, Subramanya S. A critical review on properties and applications of microbial l-asparaginases. *Crit Rev Microbiol* 2016. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2015.1022505>.
3. Brumano LP, da Silva FVS, Costa-Silva TA, et al. Development of L-Asparaginase Biobetters: Current Research Status and Review of the Desirable Quality Profiles. *Front Bioeng Biotechnol* 2018;6:1–22. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00212>.
4. Sarmiento F, Peralta R, Blamey JM. Cold and hot extremozymes: Industrial relevance and current trends. *Front Bioeng Biotechnol* 2015. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00148>.
5. Van den Burg B. Extremophiles as a source for novel enzymes. *Curr Opin Microbiol* 2003;6. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(03\)00060-2](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(03)00060-2).
6. Hoshino T, Xiao N, Tkachenko OB. Cold adaptation in the phytopathogenic fungi causing snow molds. *Mycoscience* 2009;50. <https://doi.org/10.1007/s10267-008-0452-2>.
7. Hoshino T, Terami F, Tkachenko OB, Tojo M, Matsumoto N. Mycelial growth of the snow mold fungus, *Sclerotinia borealis*, improved at low water potentials: An adaptation to frozen environment. *Mycoscience* 2010;51. <https://doi.org/10.1007/s10267-009-0013-3>.
8. Tiwari AK, Rao JV, Doriya K, Kumar DS, Qureshi A, Ashok A. Microbes Producing L-Asparaginase free of Glutaminase and Urease isolated from Extreme Locations of Antarctic Soil and Moss. *Sci Rep* 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38094-1>.
9. Moguel IS, Yamakawa CK, Pessoa A, Mussatto SI. L-asparaginase Production by *Leucosporidium scottii* in a Bench-Scale Bioreactor With Co-production of Lipids. *Front Bioeng Biotechnol* 2020;8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.576511>.
10. Duarte AWF, Barato MB, Nobre FS, et al. Production of cold-adapted enzymes by filamentous fungi from King George Island, Antarctica. *Polar Biol* 2018;41. <https://doi.org/10.1007/s00300-018-2387-1>.

БИОСИНТЕЗ БЕЛКА И ЦЕЛЛЮЛАЗ МИКРОМИЦЕТАМИ

Хамидова Х.М., Азимова Н.Ш., Х.Х.Каримов, Шакиров З.С.
Институт микробиологии АНРУз, Ташкент

Запрет многих кормовых антибиотиков заставляет производителей во всем мире искать безопасные и эффективные альтернативы, которые позволили бы производить много питательной, недорогой и безопасной продукции. Одним из реальных направлений являются кормовые добавки на основе полезных микроорганизмов, оказывающих благоприятное действие на организм животных. Они представляют собой биомассу или метаболиты, продуцируемые микроорганизмами с выраженным антагонизмом к патогенной и условно - патогенной микрофлоре, продуцирующие целлюлолитические ферменты, белки, аминокислоты, витамины. Применение микроорганизмов, в частности, микромицетов, продуцирующих ферменты играет важную роль в биоконверсии различных целлюлозосодержащих отходов [1,2]. Ферментные препараты используются в процессе подготовки кормов для повышения усвояемости корма и его питательной ценности для сельскохозяйственных животных. С целью профилактики различных заболеваний препараты могут добавляться в корма, они способствуют хорошему перевариванию, повышают эффективность применения растительных кормов. В Узбекистане отсутствуют

приемлемые биотехнологии получения кормовых препаратов для животноводства на основе микроорганизмов, которые могли бы использоваться в качестве добавок в корма.

Цель работы - отбор эффективных микромицетов, продуцирующих белки и целлюлолитические ферменты для гидролиза отходов растениеводства, а также обладающие антагонистической активностью к фитопатогенам с целью использования в качестве основы при создании кормовой добавки для животных.

Ферментативную активность микромицетов, выделенных ранее и хранящихся в коллекции лаборатории изучали при культивировании в течение 4 суток при глубинных условиях на среде Чапека. Источником углерода служила пшеничная солома. Выращивали на качалке со скоростью 160 об/мин. Как показывают результаты, представленные в таблице 1 активность изучаемых ферментов целлюлазного комплекса проявили все испытанные нами культуры. Активность эндо-1,4-β-глюканазы, экзо-1,4-β-глюканазы, ксиланазы колебалась в пределах 2,6 -5,1; 2,0-2,95; 5,5 -7,55 ед/мл, соответственно.

Таблица 1

Ферментативная активность микромицетов в глубинных условиях культивирования

№	Микромицеты	Эндо-1,4-β-глюканаза, ед/мл	Экзо-1,4-β-глюканаза, ед/мл	Ксиланаза, ед/мл
1	<i>Penicillium canescens</i>	3,7	2,75	6,6
2	<i>Aspergillus terreus</i>	2,6	2,0	5,7
3	<i>T. harzianum</i> UzCF-28	5,1	2,95	7,55
4	<i>T. harzianum</i> UzCF-55	3,5	2,8	5,5
5	<i>Trichoderma</i> sp. 4	3,0	2,25	5,85

Наибольшую активность всех исследованных нами ферментов образовывала культура *T. harzianum* UzCF-28, ксиланазная активность которой составила 7,55, эндо-1,4-β-глюканазная -5,1 и экзо-1,4-β-глюканазная -2,95 ед/мл. Несколько ниже была активность ферментов, образуемая грибом *Penicillium canescens*. Активность изученных культур по увеличению активности можно представить следующим образом; *Aspergillus terreus* < *Trichoderma* sp. 4 <

T. harzianum UzCF-55 < *Penicillium canescens* < *T. harzianum* UzCF-28.

Изучение биосинтеза ферментов при твердофазном культивировании наиболее перспективно, так как именно при этих условиях культивирования микроорганизмов происходит максимально возможный биосинтез всех ферментов, входящих в целлюлазный комплекс.

Таблица 2.

Ферментативная активность микромицетов в твердофазных условиях

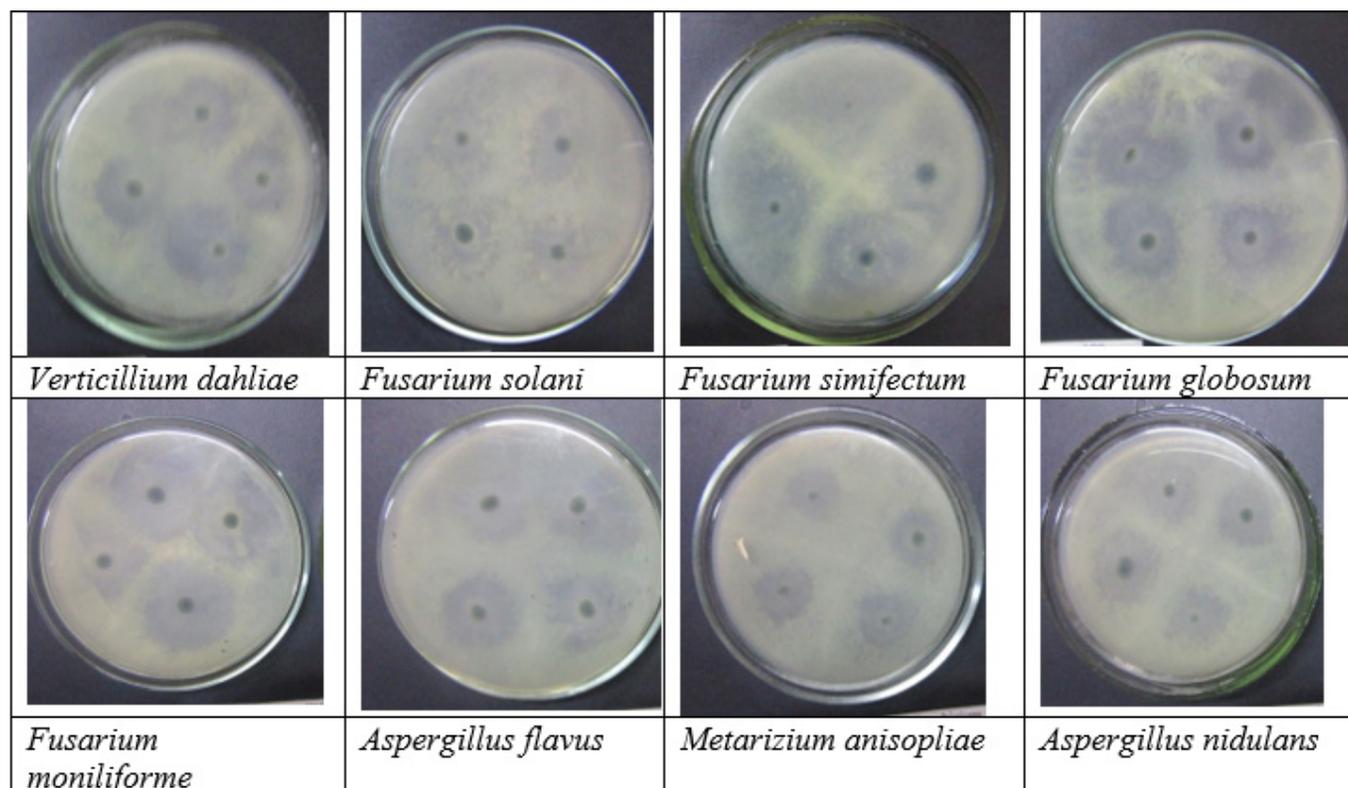
		Эндо-1,4-β-глюканаза, ед/г	Экзо-1,4-β-глюканаза, ед/г	Ксиланаза, ед/г
1	<i>Penicillium canescens</i>	28,3	12,5	26
2	<i>Aspergillus terreus</i>	7,0	11,0	22
3	<i>T. harzianum</i> UzCF-28	32,2	13,45	28,5
4	<i>T. harzianum</i> UzCF-55	27,2	13,0	26
5	<i>Trichoderma</i> sp. 4	17,5	12,15	24,5

В твердофазных условиях культивирования максимальный биосинтез ферментов также отмечен в культуральной жидкости гриба *T. harzianum* UzCF-28, а наименьшая активность всех 3-х ферментов проявила культура *Aspergillus terreus* (таблица 2).

Поскольку белок является одним из важнейших пищевых компонентов для животных нами было проведено определение содержания белка по методу Лоури. Образование белка в глубинных условиях культивирования было наибольшим у гриба *T. harzianum* UzCF-28, равным 1,1 мг/

мл, 0,96 синтезировал *Penicillium canescens*, *Trichoderma* sp. 4 образовывала 0,95, *T. harzianum* UzCF-55 - 0,88 и *Aspergillus terreus*- 0,82 мг/мл. Данные по осахаривающей способности культур мало отличались от других полученных результатов (ферментов, белка). Как и все остальные параметры осахаривающая способность гриба *T. harzianum* UzCF-28 была наиболее высокой. Далее следовали *Trichoderma* sp. 4, *Penicillium canescens*, *T. harzianum* UzCF-55 и *Aspergillus terreus*, осахаривающая способность которых составила 4,2, 4,0, 3,8 и 3,5 мг/мл, соответственно.

Рис.1 Антагонистические свойства гриба *T. harzianum* UzCF-28



Известно, что основным кормом для животных является растительная продукция, с самой весны до поздней осени животные питаются подножным кормом растительного происхождения. Растительная продукция часто поражается фитопатогенами из почвы. Так как в результате отбора микроорганизмов, обладающих ферментативными свойствами нами был отобран гриб *T. harzianum* UzCF-28, а грибы рода *Trichoderma* являются продуцентами ряда метаболитов, обладающих антагонистической активностью по отношению к широкому кругу бактериальных и грибных патогенов [4], нами была исследована антагонистическая способность гриба к растительным патогенам *Verticillium dahliae*, *Fusarium solani*, *Fusarium simifectum*, *Fusarium globosum*, *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus flavus*, *Metarhizium anisopliae* и *Aspergillus nidulans*.

Как показали результаты исследований, гриб *T. harzianum* Uz CF-28 обладал достаточно высокой антагонистической активностью в отношении 8 испытанных патогенов (рис.1). Зона подавления роста патогена *V. dahliae* грибом составила 31,6 мм в радиусе, *Fusarium solani* - 21 мм, *Fusarium simifectum* - 22,3, *Fusarium globosum*-25,3, *Aspergillus flavus*-10 и *Aspergillus nidulans* - 29 мм в радиусе.

Проведенные исследования позволили продемонстрировать возможности применения микроорганизмов в биоконверсии целлюлозосодержащего сырья, являющегося

возобновляемым и практически неисчерпаемым источником. Отобран гриб *T. harzianum* UzCF-28, характеризующийся максимальной способностью продуцировать целлюлазы и белок, а также обладающий антагонистической активностью против фитопатогенов.

Работа выполнена по проекту А-ФА-2021- 7 «Разработка технологии получения новой кормовой добавки для нормализации микрофлоры желудочно-кишечного тракта и обеспечения усвояемости корма сельскохозяйственными животными»

Список литературы

1. Сеницын А.П., Клесов А.А., Рабинович М.Л. и соавт. «Биотехнология ферментативного превращения целлюлозы» //1988, Итоги науки и техники. Серия Биотехнология. Москва, т.12. 150 стр.
2. Abo-State M.A.M., Hammad A.I., Swelim M., Gannam R.B. Enhanced production of cellulose by *Aspergillus* spp. isolated from agriculture wastes by solid state fermentation// 2010, American-Eurasian J.Agric.&Environ/ Sci., 8(4); p.402-410
3. Найдун С.Н., Куделько Э.В., Кудряшов А.П., Коптевич Т.М. Использование ферментных препаратов на основе грибов рода *Trichoderma* для повышения биодо-

ступности компонентов шротов масличных культур // Депозитарий ПолесГУ материалы конф. Биотех.: дост. и перс. Развития, 2014. С.116-120

4. Vyas SC, Vyas S (1995) Integrated control of dry root of soybean. In: Lyr H, Russell PE and Sisler HD (eds) Modern fungicides and antifungal compounds. Intercept, Andover, pp 565-572

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ АДДИТИВОВ НА РЕФОЛДИНГ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ ПРОТЕАЗЫ МИКРОМИЦЕТА *ASPERGILLUS OCHRACEUS* ВКМ F-4104D

Комаревцев С.К.¹, Осмоловский А.А.², Мирошников К.А.³

¹Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж;

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва;

³Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва

Микромицет *Aspergillus ochraceus* ВКМ F-4104D является продуцентом секретируемой щелочной протеазы, обладающей фибринолитической и активаторной по отношению к протеину С плазмы крови активностями [1,2]. Первичные исследования свидетельствуют о перспективности использования этой протеазы в ветеринарных, медицинских и диагностических сферах применения [3,4]. Ранее была установлена полная последовательность гена и кДНК исследуемой протеазы, а сам фермент был получен в активной растворимой форме в бактериальной экспрессионной системе [5]. Данная протеаза относится к группе протеиназы-К-подобных субтилизиновых протеаз и синтезируется в виде неактивного предшественника, состоящего из сигнальной последовательности, отщепляющейся во время транслокации полипептидной цепи через мембрану ЭПР, пропептида, обеспечивающего правильное сворачивание и ингибирование активности фермента на начальных этапах его синтеза, и протеазного домена, ответственного за протеолитическую активность, который несет два кальций-связывающих домена, стабилизирующих структуру молекулы [5,6].

Рефолдинг (ренатурация) – это способ получения нативного белка после экспрессии в виде нерастворимых денатурированных тел включения, который может значительно увеличить его выход [7,8]. Отсутствие остатков цистеина и дисульфидных связей в молекуле исследуемой протеазы дает возможность избежать этапов восстановления и окисления в процессе рефолдинга, что снижает сложность выполнения этого процесса. В связи с этим, а также учитывая известные данные об успешном рефолдинге других протеаз субтилизинового семейства, исследование особенностей рефолдинга протеазы-активатора протеина С плазмы крови имеет большую научно-прикладную значимость [9,10].

В качестве экспрессионной конструкции использовали плазмиду pET23d (Novagen), несущую кодирующую последовательность пропептидного и протеазного домена целевого фермента, а также С-концевой 6xHis-tag, склонированные по рестриктивным сайтам NcoI и XhoI [11]. Для проведения экспрессии выращивали культуру свежесформированных клеток штамма *E. coli* BL21 (DE3) до OD₆₀₀~0,6, после чего проводили индукцию белкового синтеза добавлением IPTG до конечной концентрации 0,5 мМ и инкубировали при 37°C в течение 4 ч. Полученную биомассу гомогенизировали ультразвуком, осаждали фракцию тел включения центрифугированием, после чего солиubilизировали их в 8 М мочеvine, 50 мМ Трис-НСl, рН 8,0 [12].

В качестве кандидатных рефолдирующих агентов для исследования использовали доступные для масштабного применения в промышленности вещества, такие как суль-

фат аммония, аргинин, глицерин, сахароза, твин и тритон Х-100. Для проведения рефолдинга использовали разбавление солиubilизата тел включения в исходной концентрации 0,1 мг/мл в 20 раз в рефолдирующем буфере с исследуемыми аддитивами при комнатной температуре. В качестве рефолдирующего буфера использовали 50 мМ Трис-НСl, рН 8,0, 10 мМ СаCl₂ [13].

Наибольший выход правильно свернутой формы фермента наблюдали при использовании глицерина и сахарозы в качестве аддитивов для рефолдинга. В то же время, аргинин и детергенты оказали отрицательное влияние на эффективность технологического процесса.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (номер проекта 20-16-00085). Вклад авторов: получение и обработка результатов – Сергей Комаревцев, анализ и обсуждение результатов – Александр Осмоловский, общее руководство работой – Константин Мирошников.

Список литературы:

1. Осмоловский А.А., Крейер В.Г., Кураков А.В., Баранова Н.А., Егоров Н.С. Микромицеты *Aspergillus ochraceus* – продуценты внеклеточных протеиназ – активаторов протеина С плазмы крови // Прикладная биохимия и микробиология. 2012. 48, 5, 537-542.
2. Осмоловский А.А., Крейер В.Г., Баранова Н.А., Кураков А.В., Егоров Н.С. Образование микромицетом *Aspergillus ochraceus* внеклеточных протеиназ – активаторов протеина С плазмы крови при глубинном и твердофазном культивировании // Прикладная биохимия и микробиология. 2013. 49, 6, 580-586.
3. Осмоловский А.А., Крейер В.Г., Баранова Н.А., Кураков А.В., Егоров Н.С. Свойства внеклеточной протеиназы – активатора протеина С плазмы крови, образуемой микромицетом *Aspergillus ochraceus* // Прикладная биохимия и микробиология. 2015. 51, 1, 86-92.
4. Осмоловский А.А., Орехова А.В., Крейер В.Г., Баранова Н.А., Егоров Н.С. Возможность применения внеклеточной протеазы микромицета *Aspergillus ochraceus* ВКМ-F4104D для определения содержания протеина С в плазме крови человека // Биомедицинская химия. 2018. 64, 1, 115-118.
5. Komarevtsev S.K., Evseev P.V., Shneider M.M., et al. Gene analysis, cloning, and heterologous expression of protease from a micromycete *Aspergillus ochraceus* capable of activating protein C of blood plasma // Microorganisms. 2021. 9, 1936.
6. Siezen R.J., Leunissen J.A. Subtilases: the superfamily of subtilisin-like serine proteases // Protein Sci. 1997. 6, 3, 501-523.

7. Bhatwa A., Wang W., Hassan Y.I., Abraham N., Li X.Z., Zhou T. Challenges associated with the formation of recombinant protein inclusion bodies in *Escherichia coli* and strategies to address them for industrial applications // *Front Bioeng Biotechnol.* 2021. 9, 630551.
8. Yamaguchi H., Miyazaki M. Refolding techniques for recovering biologically active recombinant proteins from inclusion bodies // *Biomolecules.* 2014. 4, 1, 235-251.
9. Ni H., Guo P.C., Jiang W.L., Fan X.M., Luo X.Y., Li H.H. Expression of nattokinase in *Escherichia coli* and renaturation of its inclusion body // *J Biotechnol.* 2016. 231, 65-71.
10. Sone M., Falzon L., Inouye M. The role of tryptophan residues in the autoprocessing of prosubtilisin E // *Biochim Biophys Acta.* 2005. 1749, 1, 15-22.
11. Sambrook J., Russell D.W. *Molecular cloning.* New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. XXV, 2209 p.
12. Kaur J., Kumar A., Kaur J. Strategies for optimization of heterologous protein expression in *E. coli*: Roadblocks and reinforcements // *Int J Biol Macromol.* 2018. 106, 803-822.
13. Yamaguchi S., Yamamoto E., Mannen T., Nagamune T. Protein refolding using chemical refolding additives // *Biotechnol J.* 2013. 8, 1, 17-31.

ГРИБЫ-АЛКАЛОФИЛЫ - ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК НОВЫХ АНТИБИОТИКОВ

Куварина А.Е.¹, Садыкова В.С.¹, Георгиева М.Л.^{1,2}, Рогожин Е.А.^{1,3}

¹Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва;

²Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва

³Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова

Грибы являются важнейшими компонентами в биоценозах, где они выполняют функции деструкторов сложных органических соединений, и объединяют различные его части в единое целое. Функциональные особенности и биотехнологический потенциал микромицетов в некоторых биотопах слабо изучен и недооценивается, например, в содовых солончаках, где высокие значения рН среды сочетаются с высокими концентрациями солей. Разнообразие культивируемых щелочустойчивых мицелиальных грибов невелико, среди них представители аскомицетов из порядков *Hypocreales*, *Glomerellales*, *Pleosporales*, *Sordariales*. В содовых солончаках выявлены грибы с разными типами адаптации к рН, однако значительную часть микобиоты составляют алкалофильные изоляты, наиболее высокие показатели встречаемости и численности отмечены для *Sodiomyces alkalinus* (*Glomerellales*) и *Emericellopsis alkalina* (*Hypocreales*) (*Grum-Grzhimaylo et al., 2016*). Для успешного роста и жизнедеятельности в экстремальных условиях организмы могут вырабатывать оригинальные метаболиты, и грибы-алкалофилы остаются привлекательным источником для поиска новых антибиотиков. Антимикробные свойства *E. alkalina* и *S. alkalinus* реализуются за счет синтеза различных антимикробных пептидов.

В 2018 г. из штамма-продуцента *E. alkalina* F1428 был выделен новый антимикробный пептид – эмерициллипсин А (EmiA), с противогрибковым действием в отношении патогенных микромицетов (Rogozhin et al., 2018). Это линейный пептид, который образует альфа-спираль и содержит 9 аминокислотных остатков, молекулярная формула C₅₄H₉₉N₉O₁₁ с изотопной молекулярной массой 1049.746. С тех пор проведено его подробное изучение.

Были выявлены еще четыре новых минорных соединения, названные эмерициллипсины В-Е (EmiB, EmiC, EmiD, EmiE), являющиеся гомологами основного соединения EmiA и отличающиеся от него одиночными заменами аминокислот (Kuvarina et al., 2021). Показано, что наиболее высокая антифунгальная активность (в отношении резистентных патогенных клинических изолятов грибов) у основного компонента комплекса EmiA и она аналогична активности у амфотерицина В. Антифунгальная активность снижалась в линии пептаиболов (EmiA → EmiE). Было оце-

нено количественное содержание EmiA в культуральной жидкости (КЖ) и мицелии при росте на жидких средах у 32 штаммов *E. alkalina* (Kuvarina et al., 2022a). Показано, что оно значительно варьирует: у 20 из них количество EmiA преобладает в мицелии. Высокое содержание EmiA (более 200 мг/л) выявлено у девяти изолятов в мицелии и у пяти изолятов в КЖ. Изоляты *E. alkalina* A113 и *E. alkalina* M20 характеризовались высокими уровнями EmiA как в КЖ, так и в мицелии, составляющими 358,75 и 356,5 мг/л для A113 и 342 и 202 мг/л соответственно для M20. Максимальное количество EmiA обнаружено в КЖ типового штамма *E. alkalina* E101 - 429,5 мг/л, а максимальное содержание EmiA в мицелии отмечено у штамма *E. alkalina* A117 и составило 338,75 мг/л. Штамм *E. alkalina* F1428 характеризовался также высокими значениями содержания EmiA как в КЖ – 262 мг/л, так и в мицелии – 184 мг/л.

Получены данные о противогрибковой активности EmiA в отношении клинических штаммов 67 условно патогенных штаммов грибов. Кроме того, EmiA продемонстрировал низкую цитотоксическую активность по отношению к нормальной клеточной линии (HPF), но обладал раковой селективностью к клеточным линиям K-562 и HCT-116. EmiA проявлял незначительную гемолитическую активность в концентрациях 0–20 мкМ, что делает его малотоксичным соединением по отношению к нормальным человеческим клеткам, но с потенциально высоким терапевтическим индексом. Ингибирующее действие EmiA на биопленкообразование клинических патогенов определяли на тест-культурах *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*. Полученные результаты позволяют предположить, что EmiA может быть использован при создании противогрибкового средства для терапии инвазивных микозов, особенно для лечения полирезистентного аспергиллеза и криптококкоза.

У других алкалофилов - грибов *S. alkalinus* - за антимикробную активность отвечают низкомолекулярные белки. Структурный анализ, анализ данных MALDI, MS | MS и др. позволили идентифицировать антимикробное соединение Sa-HFB1, выделенное из *S. alkalinus*, как гидрофобин класса II (Kuvarina et al., 2022b). Спектр антимикробной активности выявил высокую антифунгальную активность,

при этом активность по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* не обнаружена. В дальнейшем был расширен спектр тест-культур за счет использования клинических изолятов дрожжевых грибов, возбудителей инвазивных кандидозов с множественной резистентностью к применяемым антибиотикам из коллекции «Московского городского научно-практического центра борьбы с туберкулезом». Новый гидрофобин Sa-HFB1 показал высокую активность к дрожжевым патогенным грибам, включая клинические изоляты с мультирезистентностью к полиенам и азолам. Так, например, зоны подавления к *Candida albicans* 1582м составили 18 мм, а у лекарственных препаратов для лечения оппортунистических микозов «флуконазол» и «вориконазол» - 0 и 1мм соответственно. Изучение изолятов *S. alkalinus* из различных регионов позволило установить, что, выделяемые или гидрофобины структурно отличаются. Нам впервые удалось обнаружить антифунгальные свойства для белков-гидрофобинов.

Таким образом, развитие этого прикладного направления исследований очень своевременно и перспективно, и обусловлено, в том числе, медицинским и биотехнологическим значением грибов-алкалофилов. Многообразие обнаруживаемых форм антимикробных пептидов может быть основой для поиска новых природных антибиотиков.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-04-00992 (М.Л. Георгиева, идентификация изолятов, поддержание коллек-

ции) и РНФ 21-75-00062 (А.Е. Куварина, выделение и анализ антимикробной активности эмерицеллипсинов).

Список литературы

1. Grum-Grzhimaylo A.A., Georgieva M.L., Bondarenko S.A., Debets A.J.M., Bilanenko E.N. On the Diversity of Fungi from Soda Soils // Fungal Diversity. 2016. Vol. 76. N 1. P. 27-74. DOI: 10.1007/s13225-015-0320-2
2. Rogozhin E.A., Sadykova V.S., Baranova A.A., et al. A novel lipopeptaibol Emericellipsin A with antimicrobial and antitumor activity produced by the extremophilic fungus *Emericellopsis alkalina* // *Molecules*. 2018. Vol. 23. N 11. P. 2785. DOI: 10.3390/molecules23112785
3. Kuvarina A.E., Gavryushina I.A., Kulko A.B., et al. The Emericellipsins A-E from an alkaliphilic fungus *Emericellopsis alkalina* show potent activity against multidrug-resistant pathogenic fungi // *J. Fungi*. 2021. Vol. 7. N 2. P. 153. <https://doi.org/10.3390/jof7020153>
4. Kuvarina A.E., Gavryushina I.A., Sykonnikov M.A., et al. Exploring Peptaibol's Profile, Antifungal, and Antitumor Activity of Emericellipsin A of *Emericellopsis* Species from Soda and Saline Soils // *Molecules*. 2022. Vol. 27. I. 5. P. 1736. <https://doi.org/10.3390/molecules27051736>. (a).
5. Kuvarina A.E., Rogozhin E.A., Sykonnikov M.A., et al. Isolation and characterization of a novel hydrophobin, Sa-HFB1, with antifungal activity from an alkaliphilic fungus, *Sodiomyces alkalinus* // *J. Fungi*. 2022. Vol. 8. N. 7. P. 659. <https://doi.org/10.3390/jof8070659>. (b).

ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЕЖОВИКА ГРЕБЕНЧАТОГО НА РАЗНЫХ ПО СОСТАВУ СУБСТРАТАХ В УСЛОВИЯХ ИНТЕНСИВНОЙ ТЕХНОЛОГИИ

Лавлинский А.В.

Воронежский государственный университет

Ежовик гребенчатый (*Hericium erinaceum*) является ценным съедобным ксилотрофным грибом, произрастающим в европейской части России, в Крыму, на Кавказе, Западной и Южной Сибири, Дальнем Востоке, а также в Азии и Америке [1,2]. Данный вид относится к редким и занесен в Красную книгу Российской Федерации [3], сбор его в природе запрещен. Ежовик гребенчатый представляет интерес не только как вкусный, с ароматом морепродуктов, деликатесный продукт, но в большей степени как гриб, обладающий ценными полезными свойствами воздействия на организм человека. Его полисахариды стимулируют регенерацию слизистой желудка при язвенной болезни, он содержит 5 различных противоопухолевых полисахаридов, а так же другие противоопухолевые вещества — фенолы и жирные кислоты, которые действуют на раковые клетки напрямую, как при химиотерапии. Эринацин Е и гериценон могут восстанавливать нервную ткань головного мозга и работу нейронов, что может помочь лечению болезни Альцгеймера. В восточной медицине применяется при невралгии, бессоннице, импотенции, для восстановления нервной системы, как стимулятор роста и регенерации отростков нервных клеток, как эффективный антисептик и иммуностимулятор. В настоящее время во многих лабораториях и производствах выращивают ежовик гребенчатый в искусственных условиях, при этом используются различные субстраты для интенсивной технологии культивирования. Целью нашей работы явился подбор компо-

нентов субстрата для получения большего урожая плодовых тел грибов. В качестве объекта исследования был взят штамм ежовика гребенчатого С-941, полученный из ООО «Сантана» (г. Саратов). Посадочный мицелий на зерне ржи изготавливался по стандартной методике в лабораторных условиях. Учитывая, что ежовик гребенчатый в природе по типу питания является ксилотрофным видом, основу субстрата составляли целлюлозосодержащие компоненты - опилки лиственных пород деревьев (береза, тополь, ольха), подсолнечная шелуха (створки семян подсолнечника цельные и измельченные), в которые добавлялись различные ингредиенты с питательными добавками: отруби, отходы обмолота зерна, мелкие клубни, очистки картофеля. Нами изучались различные соотношения компонентов субстрата. Было взято 3 основных варианта соотношений: опилки (80%)+ шелуха (20%) без питательных добавок; шелуха (70%)+ опилки (30%) без питательных добавок и шелуха (40%) +опилки (40%) с добавлением питательных ингредиентов (отходы зерна, измельченные картофельные отходы) до 20%. Субстрат готовился по стерильной технологии с автоклавированием при 1,5 атм. в течение 2 часов, после остывания расфасовывался в стерильные пакеты ПНД с фильтром весом до 2 кг. Инкубация проводилась в помещении с температурой +20 - +22 С, плодородие - при температуре +15 - +17 С. Результаты учитывались путем взвешивания снятых плодовых тел по отношению к первоначальному весу упаковок субстрата. Урожай оценивался

по суммарному весу со всех волн плодоношения, число которых доходило до 5 на отдельных блоках. Полученные результаты показали, что наиболее урожайным был вариант с соотношением шелухи подсолнечника и опилок в соотношении 1: 1 и добавлением питательных ингредиентов. Выход грибов с первой волны в данном варианте достигал 20%, а общий урожай был в диапазоне 25 – 30% от веса субстрата. Несколько менее урожайным был вариант с основой из шелухи (70%) – до 22%, еще меньше был выход грибов с основой субстрата из опилок – не более 18 - 20%. Полученные нами результаты свидетельствуют о возможности успешного выращивания ежевика гребенчатого в условиях искусственного культивирования на целлюлозо-содержащих субстратах. Использование стерильной технологии приготовления и засева субстрата мицелием позволяет вносить дополнительно питательные добавки для увеличения урожайности плодовых тел ежевика. Невысо-

кие затраты на оптимально подобранные субстраты с ингредиентами и поддержание необходимых климатических условий в помещениях культивирования (температура, влажность, воздухообмен) позволяет успешно выращивать грибы ежевика гребенчатого во всех регионах Российской Федерации.

Список литературы

1. Stamets, P. *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms.*-Hong Kong, 1993. - 552 p.
2. Основы биотехнологии высших грибов: учебное пособие / Н.А. Заикина [и др.]. – СПб.:
 1. «Прспект науки», 2007. – 336 с.
 2. Грибы / Л.В. Гарибова [и др.] // Красная книга РФ (растения и грибы).- М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – С.753–782.

ПОЛУЧЕНИЕ И ОЦЕНКА ПОЛИКЕТИДОВ ГРИБНОГО СИНТЕЗА С МОСКИТОЦИДНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Лиховидов В.Е.1, Александрова А.В.2

1Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Московская область
2Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Микромицеты являются продуцентами многих биологически активных природных соединений (БАПС), нашедших широкое применение в медицине и санитарии [1, 2, 3, 4]. К настоящему времени, доля метаболитов грибного синтеза составляет более 50% от всех открываемых БАПС [3]. Получение вторичных грибных метаболитов основано на использовании различных биотехнологических подходов, среди которых доминирует ацетатный путь получения поликетидов [5]. Отличительной особенностью поликетидов является их специфический биосинтез, который осуществляется сложноорганизованными ферментами поликетидсинтазами [6]. Несмотря на то, что биотехнология получения поликетидов микробного синтеза в мире широко развита, в России работы по получению этих метаболитов из штаммов микромицетов, до сих пор не проводились.

Исследования предусматривали реализацию следующих стадий биотехнологического процесса: Скрининг штаммов микромицетов из коллекции «ГКПМ - ОБОЛЕНСК» на москитоцидную активность и отбор наиболее активных штаммов; разработка технологических приемов культивирования перспективных штаммов микромицетов и их оценка по признакам продуктивности и активности; культивирование активных штаммов микромицетов и получение биомассы грибов; экстрагирование высушенной грибной биомассы хлористым метиленом в аппарате Сокслета; экстрагирование фугата хлористым метиленом в жидкость-жидкостном экстракторе; фракционирование сырых экстрактов путем их последовательной обработки растворителями различной полярности (гексан, хлороформ, этилацетат, метанол); очистка экстракта с использованием флэш-хроматографии и жидкостного хроматографа высокого давления; определение структуры и класса соединений методами ИК-спектроскопии, масс-спектрографии (электроспрей (ESI), МАЛДИ (MALDI), а также масс-спектрографии высокого разрешения (HRESI)) и ЯМР-спектроскопии (1H-ЯМР, 13C-ЯМР) на приборах с рабо-

чими частотами для протонов 400 и 600 МГц с использованием протоколов COSY, DEPT, HMBC.

Протестировано на москитоцидную активность 505 штаммов, из которых выявлено 182 активных штаммов из 48 родов микромицетов [7]. Одними из наиболее активных являются штаммы грибов *Calcarisporium arbuscula* F-80 [8] и *Sesquicillium candelabrum* F-114 [9].

Получение и оценка метаболита гриба *Calcarisporium arbuscula* F-80.

Штамм выделен в 2004 году из образцов почвы Тверской области и депонирован в коллекции микроорганизмов «ГКПМ - ОБОЛЕНСК» [8]. Культуру гриба выращивали на модифицированной плотной питательной среде Чапека в чашках Петри при температуре 230С и относительной влажности 90% в течение 12 дней до образования сплошного воздушного мицелия со зрелыми конидиями. Культивирование штамма проводили на среде следующего состава (г/л): соевая мука (20,0); дрожжевой экстракт (8,0); глюкоза (30,0); КН₂РО₄ (3,0); Mg₂SO₄ (0,7). Нарработку биомассы гриба осуществляли в качалочных колбах на микробиологической качалке (260 об/мин) в течение шести дней при температуре 230С и рН среды – 6,0 до выхода культуры на стационарную фазу роста и образования бластоспор. Из культуральной жидкости получали фугат путем ее центрифугирования при 4000 об/мин в течение 40 мин.

Для выделения и изучения метаболита было проведено экстрагирование и фракционирование грибной биомассы. Высушенный мицелий гриба экстрагировали хлористым метиленом в аппарате Сокслета в течение 24 часов при 300 С. Экстракцию веществ из фугата проводили хлористым метиленом в жидко-жидкостном экстракторе непрерывного действия в течение 36 часов. Фракционирование сырых экстрактов осуществляли путем последовательной обработки растворителями различной полярности (гексаном, хлороформом, этилацетатом, метанолом). Окончательную очистку производили в несколько стадий с использованием флэш-хроматографии и жидкостного хроматографа высокого давления. Для разделения фракций ис-

пользовали полупрепаративные колонки (250x12 мм) с носителями “Diol”, “С-18” и силикагель фирмы” Phenomenex”. Структуру и класс этих соединений определяли методами ИК-спектроскопии, масс-спектроскопии (электроспрей (ESI), МАЛДИ (MALDI), а также масс-спектроскопии высокого разрешения (HRESI)) и ЯМР - спектроскопии (1H-101 ЯМР, 13С-ЯМР) на приборах с рабочими частотами для протонов 400 и 600 МГц с использованием протоколов COSY, DEPT, HMBC.

В результате выполнения изложенного технологического процесса наработано 105 мг активного метаболита гриба *Calcarisporium arbuscula* F-80. Продуктивность штамма 160 мг/л культуральной жидкости. Установлено, что вещество, полученное из этого штамма гриба по своей химической природе, является поликетидом (нанокетид) и называется (по номенклатуре UIPAC) - Ауровертин «В». Москитоцидные свойства этого вещества не были известны. Установлено [10], что биосинтез Ауровертина «В»

проходит по поликетидному пути; субстратом являются ацетат и малонат. Согласно литературным данным, Ауровертин «В» обладает фунгицидной активностью и является ингибитором Mg-зависимой митохондриальной F1 АТФ-азы [11].

Москитоцидную активность Ауровертин «В» определяли на личинках и куколках комаров четырех видов. В емкости объемом 1 мл заливали по 1 мл очищенного экстракта, и далее разводили его так, чтобы получить ряд разведений от 100% до 12,5%. В каждое разведение помещали по 10 личинок комаров и куколок. Их содержали при 25°C в термостате. В качестве контроля использовали воду. Повторность опыта 4-кратная. Для тестируемого метаболита определяли среднелетальную концентрацию (LC50), выраженную в миллионных долях (ppm). Величине 1ppm соответствует концентрация чистого вещества - 1 мкг/мл. В таблице 1 представлены данные по тестированию метаболита на различных видах комаров.

Таблица 1 - Активность (LC50) Ауровертина «В» в отношении личинок и куколок различных видов комаров.

Вид комаров	Время экспозиции (час)	LC ₅₀ (ppm) против		
		Личинок		Куколок
		II возраста	IV возраста	
<i>Aedes aegypti</i>	24	8,7	35,0	Не активен
	96	6,2	6,2	62,0
<i>Culex pipiens molestus</i>	24	6,0	18,0	58,0
	96	2,5	2,5	15,0
<i>Culex pipiens</i>	24	7,0	10,0	Не активен
	96	2,5	7,5	11,0
<i>Anopheles messeae</i>	24	12,5	41,0	Не активен
	96	10,3	18,0	73,7

Из данных таблицы 1 следует, что в отношении личинок второго возраста комаров активность Ауровертина «В» через 24 часа от начала опыта составляет 6,0 - 12,5ppm. Против личинок четвертого возраста активность немного ниже и составляет 10,0 - 41,0 ppm. По шкале москитоцидной активности против личинок комаров Ауровертин «В» не уступает активности химических инсектицидов. В отношении куколок комаров активность Ауровертина «В» составляет 11-73,7 ppm, или полностью отсутствует. Полученные результаты исследований позволяют рассматривать метаболит Ауровертин «В» в качестве высокоактивного вещества в отношении преимагинальных фаз кровососущих комаров.

Получение и оценка метаболита гриба *Sesquicillium candelabrum* F-114

Штамм выделен в 2004 году из образцов почвы Московской области и депонирован в коллекции микроорганизмов «ГКПМ - ОБОЛЕНСК» [9]. Выращивание культуры штамма, получение культуральной жидкости и биомассы гриба, экстрагирование и фракционирование грибной биомассы, определение структуры и класса выде-

ленного метаболита, оценку москитоцидной активности метаболита определяли методами, описанными для гриба *Calcarisporium arbuscula* F-80. Нарботано 160 мг/л активного метаболита гриба *Sesquicillium candelabrum* F-114. Продуктивность штамма 280 мг/л культуральной жидкости. Установлено, что вещество, полученное из штамма гриба по своей химической природе, является поликетидом (тетракетид) и называется (по номенклатуре UIPAC) - 2,3 - диметокси 5,6-диметил бензохинон, Москитоцидные свойства этого вещества не были известны.

Данное соединение по структуре является тетракетидом, относится к классу бензохинонов. Его биосинтез в клетках осуществляется с использованием ацетата. В литературе имеются данные о том, что 2,3-диметил 5,6-диметокси бензохинон синтезируется грибом *Gliocladium roseum* [12] и назван авторами - аурантиоглиокладин [13].

Москитоцидную активность 2,3-диметокси 5,6-диметил бензохинона определяли на личинках и куколках комаров четырех видов. В таблице 2 представлены данные по тестированию метаболита на различных видах комаров.

Таблица 2 - Активность (LC50) 2,3 - диметокси 5,6-диметил бензохинона в отношении личинок и куколок различных видов комаров.

Вид комаров	Время экспозиции (час)	LC ₅₀ (ppm) против		
		Личинок		Куколок
		II возраста	IV возраста	
<i>Aedes aegypti</i>	24	23,0	99,0	397,0
	96	20,0	65,0	90,0
<i>Culex pipiens molestus</i>	24	48,0	88,0	172,0
	96	15,0	28,0	28,0
<i>Culex pipiens</i>	24	41,0	80,0	301,0
	96	15,0	30,0	30,0
<i>Anopheles messeae</i>	24	26,0	110,0	405,0
	96	20,0	75,0	60,0

Из данных таблицы 2 следует, что москитоцидная активность 2, 3 - диметокси 5, 6-диметил бензохинона составляет: 15-110 ppm - для личинок и 28-405 ppm - для куколок комаров. По шкале москитоцидной активности 2,3-диметокси 5,6-диметил бензохинон не уступает активности химических инсектицидов. Он активен также против куколок комаров (28,0 - 405,0 ppm). Полученные результаты исследований позволяют рассматривать метаболит 2,3 - диметокси 5, 6-диметил бензохинон в качестве высокоактивного вещества в отношении преимагинальных фаз кровососущих комаров.

Список литературы

1. Феофилова, Е.П. Достижения и проблемы новой отрасли биотехнологии: получение медицинских препаратов на основе биологически активных веществ мицелиальных грибов / Е.П. Феофилова, В.М. Терешина, А.С. Меморская // Успехи медицинской микологии. Т. 1. - М.: Национальная академия микологии, 2003. - С. 254-256.
2. Феофилова, Е.П. Вклад современной микологии в создание биотехнологий медицинского назначения / Е.П. Феофилова, А.А. Алексеев, В.М. Терешина, А.С. Меморская // Успехи медицинской микологии. Т. 3. - М.: Национальная академия микологии, 2004. - С. 139-141.
3. Бибикина, М.В. Биотехнология микромицетов – реальность и перспективы / М.В. Бибикина, А.В. Катлинский // Современная микология в России. Материалы 2-го Съезда микологов России. - М.: Национальная академия микологии, 2008. - Т. 2. - С. 33.
4. Александрова А.В. Почвообитающие микроскопические грибы: география и экология / Автореф. док. дисс. - М.: МГУ. - 2013. - 50 с.
5. Cole RJ, and Schweikert MA, Handbook of secondary fungal metabolites, vol. II, 461-492, 2003
6. Robinson J.A. Polyketide synthase complexes: their structure and function in antibiotic biosynthesis (англ.) // Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. : journal. — 1991. — Vol. 332, no. 1263. — P. 107—114).
7. Юскевич В.В. Формирование коллекции природных микромицетов и выявление штаммов с антибиотическими и москитоцидными свойствами. Автореф. канд. дис. Оболенск, 2012. -26с.
8. Лиховидов В.Е., Володина Л.И., Наумов А.Н. и соавт. Средство, обладающее москитоцидными свойствами, представляющее собой Ауровертин «В» из штамма гриба. *Calcarisporium arbuscula* ГНЦ ПМБ, F-80. Патент РФ №2391389. М., 2010.
9. Лиховидов В.Е., Володина Л.И., Наумов А.Н. и соавт. Средство, обладающее москитоцидными свойствами, представляющее собой 2,3-диметокси 5,6-диметил бензохинон из штамма гриба *Sesquicillium candelabrum* ГНЦ ПМБ, F-114. Патент РФ № 2391390. М., 2010.
10. Baldwin CL, Wearver LC, Brooker RM, Jacobsen TN, Osborne CE. Jr., and Nash HA, Biological and chemical properties of aurovertin, a metabolic product of *Calcarisporium arbuscula*, *Lloydia* 27: 88-95, 1964.
11. Van Raaij MJ, Abrahams JP, Leslie AG, Walker JE. The structure of bovine F1-ATPase complexed with the antibiotic inhibitor aurovertin B. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 93(14):6913-6917. 1996.
12. Packter NM, and Steward MW, Studies on the biosynthesis of phenols in fungi. Biosynthesis of 3,4-dimethoxy-6-methyltoluquinol and gliorosein in *Gliocladium roseum* I.M.I. 93065, *Biochem. J.* 102. 122-132, 1967.
13. Bentley R, and Lavate WV, Studies on Coenzyme Q. The biosynthesis of aurantiogliocladin and coenzyme Q in molds, *J.Biol. Chem.*, 240, N1, 532-540, 1965.

СКРИНИНГ МЕТАБОЛИТОВ БАЗИДИОМИЦЕТОВ И АСКОМИЦЕТОВ С АНТИФУНГАЛЬНОЙ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЯМИ

Лысакова¹ В. С., Барашкова² А.С, Рогожин^{1,2} Е.А., Синева¹ О. Н., Краснополянская¹ Л. М.

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе», Москва.

²ГНЦ ФГБУН Институт биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

Поиск и изучение биологически активных веществ природного происхождения, в частности, антифунгальных и антибактериальных агентов, имеет важное научное и практическое значение. Известно, что грибы обладают широким спектром биосинтетических возможностей и могут являться источником получения биологически активных соединений разнообразной химической структуры и биологической активности [1, 2]. Актуальность выявления новых метаболитов грибов - высокоактивных антибиотиков - связана с необходимостью решения таких проблем как преодоление лекарственной резистентности патогенных микроорганизмов и лечение обширных микозов – осложнений после COVID-19.

Цель настоящей работы заключалась в проведении скрининга метаболитов с антибиотической активностью у грибов отделов *Basidiomycota* и *Ascomycota*.

Объекты исследования. В работе были использованы следующие культуры. Базидиомицеты: *Ganoderma lucidum*, *Lyophyllum shimeji*, *Hypsizygos marmoreus*, *Hypsizygos ulmarius*, *Pleurotus eryngii*, аскомицеты: *Morchella esculenta*, *Cordyceps sobolifera*, *Cordyceps militaris* из коллекции лаборатории биосинтеза биологически активных соединений ФГБНУ «НИИНА».

Культуры грибов выращивали на плотных питательных средах - картофельно-глюкозный агар и сусло-агар. После выращивания культур на плотных средах осуществляли их погруженное культивирование: сначала на среде 2В в качестве посевной, далее на ферментационной, все ингредиенты которой растворимы в воде [3, 4]. Суммарная длительность погруженного культивирования варьировала в пределах 5-8 дней при 26 °С. При погруженном культивировании контролировали выход биомассы грибов и pH культурального фильтрата.

После отделения мицелия от культуральной жидкости с помощью фильтрования через лавсан проводили экстракцию. Образцы сырого мицелия каждого штамма заливали 96 % этанолом. Экстракты мицелия отделяли фильтрацией с помощью фильтровальной бумаги. К образцам культуральной жидкости добавляли этилацетат и экстрагировали с помощью делительной воронки. Экстракты упаривали на ротаторном испарителе, определяли их вес. Для дальнейших исследований образцы растворяли в этаноле.

Оценку антибиотической активности экстрактов проводили методами диффузии в агар с использованием дисков и лунок. В исследовании использовали следующие штаммы микроорганизмов из коллекции ФГБНУ «НИИНА»: *Escherichia coli* (ATCC 35210), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (MTCC 1789), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Aspergillus niger* (ATCC 16404), *Candida albicans* (ATCC 14053). На диск (d = 6 мм) наносили раствор испытуемого препарата таким образом, чтобы нагрузка на диск составила от 20 мкг до 40 мкг растворенного вещества. Отбирали наиболее активные экстракты, кото-

рые потом тестировали луночным методом. В лунки добавляли экстракты, уменьшив их концентрацию в 2,5 раза.

В отношении дрожжеподобных и мицелиальных грибов проявляли активность следующие экстракты: *H. ulmarius* культуральная жидкость (кж), *H. ulmarius* мицелий (м), *H. marmoreus* кж, *G. lucidum* кж, *G. lucidum* м, *P. eryngii* кж, *M. esculenta* кж, *L. shimeji* м.

В отношении грамположительных бактерий проявляли активность следующие экстракты: *H. ulmarius* кж, *H. ulmarius* м, *H. marmoreus* кж, *G. lucidum* кж, *G. lucidum* м, *P. eryngii* кж, *C. sobolifera* 2 м, *M. esculenta* м. В отношении грамотрицательных бактерий: *H. ulmarius* кж, *H. marmoreus* кж, *G. lucidum* кж, *G. lucidum* м.

По результатам скрининга антибиотической активности экстрактов было установлено, антифунгальные свойства экстрактов преобладали над антибактериальными. Для дальнейшего исследования с помощью обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ) были отобраны наиболее активные экстракты из погруженного мицелия и культуральной жидкости менее изученных видов. ОФ-ВЭЖХ анализ и разделение экстрактов на фракции проводили в линейном градиенте увеличения концентрации подвижной фазы, представленной элюентом А (0,1% трифторуксусная кислота (ТФУ)) и элюентом В (80% ацетонитрил с добавлением 0,1% водной ТФУ) [5].

С помощью ОФ-ВЭЖХ были получены аналитические профили для *H. ulmarius* кж, *H. ulmarius* м, *P. eryngii* кж, *C. sobolifera* 2 м, *M. esculenta* м при длинах волн поглощения 214, 254, 280 и 320 нм, ввиду того, что в структурах исследуемых веществ могут присутствовать природные хромофоры, имеющие характерные максимумы при данных длинах волн. Было установлено, что экстракты культуральной жидкости обладают большим количеством компонентов с высокой интенсивностью поглощения. Экстракты мицелия обладали скудным набором компонентов, способных к поглощению в УФ-диапазоне. Таким образом для дальнейшего фракционирования были выбраны экстракты: *H. ulmaris* кж и *P. eryngii* кж. Эти экстракты были разделены на фракции по времени элюирования с колонки. С помощью диско-диффузионного метода была проверена антибиотическая активность фракций по отношению к *A. niger* и *B. subtilis*. Для экстракта *H. ulmaris* кж была выявлена одна фракция активная по отношению к каждой из тест-культур, у экстракта *P. eryngii* кж одна фракция демонстрировала активность по отношению к *A. niger*.

Активные фракции были рехроматографированы, в результате чего были получены 4 индивидуальных компонента из экстракта *H. ulmaris* кж, и 5 индивидуальных компонентов из экстракта *P. eryngii* кж. Была изучена антифунгальная активность выделенных индивидуальных компонентов по отношению к *A. niger* с помощью микрометода (broth microdilution) и отобраны три активных компонента: два из экстракта *H. ulmarius* и один из экстракта *P. eryngii*.

Для дальнейшей работы был отобран индивидуальный компонент из *H. ulmarius* кж – Н12. Очистку этого вещества от примесей провели с помощью ОФ-ВЭЖХ, используя указанные выше условия элюирования. Процесс изучения структуры изучаемой молекулы Н12 включал УФ-спектрофотометрию и автоматическую ступенчатую деградацию по Эдману, позволившую обнаружить в структуре молекулы Н12 восемь различных аминокислот. Масс-спектрометрический анализ индивидуального компонента Н12 осуществляли методом МАЛДИ по причине предполагаемой пептидной природы соединения. Было установлено, что молекулярная масса вещества составляет 884,4 Да.

Таким образом, было показано, что в культуральной жидкости изученных штаммов базидиомицетов и аскомицетов содержатся метаболиты, обладающие антифунгальной и антибактериальной активностями. Антифунгальная активность у выделенных индивидуальных компонентов экстрактов была выше по сравнению с антибактериальной. Из экстрактов культуральной жидкости *H. ulmarius* и *P. eryngii* выделены три индивидуальных компонента с антифунгальной активностью, перспективные для дальнейшего изучения. Начато изучение структуры индивидуального компонента Н12 из экстракта культуральной жидкости *H. ulmarius*. На основании анализа ВЭЖХ профиля, УФ-спектра, результатов ступенчатой деградации по Эдману и масс-спектрометрии, было установлено, что моноизотопная молекулярная масса соединения составляет 884,4 Да, в своей структуре данная молекула содержит ряд аминокислот, не соединенных в единую полипептидную цепь. Полу-

ченные результаты позволяют предположить, что структурная основа компонента Н12 - моносахарид, связанный с аминокислотами посредством гликозидных связей. Дальнейшая работа будет направлена на установление химического строения выявленных метаболитов и на углубленное изучение их антибиотической активности.

Список литературы

1. Varghese R. et al. Historical and current perspectives on therapeutic potential of higher basidiomycetes: an overview //3 Biotech. 2019. V. 9. №. 10. P. 1-15.
2. Schueffler A., Anke T. Fungal natural products in research and development // Natural product reports. 2014. V. 31. P. 1425-1448.
3. Гарибова Л.В., Антимонова А.В. Рост и морфологические признаки мицелия трутовика лакированного *Ganoderma lucidum* в зависимости от условий культивирования. // Микология и фитопатология. 2003. Т. 37. В. 3. С. 14-19.
4. Автономова, А. В., Краснополяская Л. М. Оптимизация состава питательной среды для погруженного культивирования *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. // Микробиология. 75.2. 2006. С. 186-192.
5. Баранова А.А., Рогожин Е.А., Георгиева М.Л., Билянченко Е.Н., Кулько А.Б., Якушев А.В., Алферова В.А., Садыкова В.С. Антимикробные пептиды алкалофильных грибов *Emericellopsis alkalina*: биосинтез и биологическая активность в отношении патогенных грибов с множественной резистентностью // Прикладная биохимия и микробиология, 2019, Т. 55, № 2, С. 151-157.

ТРЮФЕЛЕВЫЕ ГИБЫ TUBER MACROSPORUM: АНАЛИЗ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА И ПОИСК БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА

Моргунова М.М., Малыгина Е.В., Дмитриева М.Е., Бельшенко А.Ю., Имидоева Н.А., Шелковникова Е.В., Аксёнов-Грибанов Д.В.
ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет»

Среди всего разнообразия грибов, изученных в отношении биомедицинских свойств, одними из наименее исследованных являются трюфельные и трюфельподобные грибы. Принимая во внимание проблемы антибиотикорезистентности патогенных микроорганизмов, расцвет кризиса антибиотиков, белковый кризис и, наконец, снижение иммунитета населения, проживающего в городской черте, трюфельные грибы могут стать новым источником полезных природных соединений. Последние могут быть направлены на создание новых функциональных продуктов питания для улучшения жизнедеятельности человека и животных, а полученные биологически активные соединения станут основой для новых препаратов для терапии социально-значимых заболеваний.

Трюфельводство представляется одной из важных, актуальных и в то же время высоко проблемных областей современного грибоводства. В настоящее время число истинных трюфельных грибов, собираемых в дикой природе, снижается. В связи с этим все чаще формируются фермы, специализирующиеся на выращивании данных грибов. Такие фермы (плантации) расположены преимущественно в Италии, Франции, Новой Зеландии, США и др. (Berch,

Bonito, 2016). До недавнего времени более 50 частных ферм специализировались на производстве данных грибов на территории Австралии. Однако, после катастрофического нарушения экосистемы Австралии в 2018–2019 гг., вызванного пожарами, большинство данных ферм не подлежат восстановлению. Данный факт ставит актуальной задачей поиск новых способов восстановления естественных популяций грибов в мире и оптимизацию применения природных соединений из трюфелей в различных областях фармацевтики и косметологии.

В своем историческом развитии человечество научилось успешно культивировать трюфели. Тем не менее, с научной точки зрения, процесс трюфельводства остается достаточно малоизученным, прежде всего ввиду сложного жизненного цикла трюфельных грибов и специфики условий, в которых они обитают. В то же время, внимание его биотехнологической значимости практически не уделено. Проведенные мировые исследования, описывающие данный объект, характеризуются достаточно высокой степенью разрозненности. В настоящее время не существует единой и в высокой степени упорядоченной системы исследования данных грибов с точки зрения биологии и меди-

цины, а данные относительно биологической активности экстрактов плодовых тел грибов неоднородны и представлены преимущественно антимикробной, антиоксидантной и ангиопластической активностью.

С точки зрения освещенности вопроса природных соединений, описанных для трюфельных грибов, мировое научное сообщество описало не более 20 природных соединений, специфичных для данного рода. В то же время, для большинства соединений не были проведены испытания по оценке их биологической активности.

Целью исследования выступала первичная оценка биофармацевтического потенциала грибов рода *Tuber* (на примере *Tuber macrosporum* Vittad 1831), собранных в России (г. Краснодар). С применением подходов экстракции, газовой хроматографии и масс-спектрометрии проведена оценка разнообразия и содержания жирных кислот и липофильных природных соединений в разных частях трюфельных грибов – в образцах перидия и в глебе. Анализ экстрактов проводили с помощью хроматографа 7820 А с селективным масс-спектрометрическим детектором HP 5975 фирмы «Agilent Technologies». Для анализа метилированных экстрактов использовали 3 образца черного трюфеля *T. macrosporum*. Экстракцию низкомолекулярных природных соединений и жирных кислот проводили методом Фолча. Пробы отбирали из поверхностного слоя - перидия, а также из сердцевинки плодового тела, после чего материал измельчали скальпелем. Около 1 г биоматериала высушенных плодовых тел помещали в патрон из фильтровальной бумаги. Подвешенный патрон в круглодонной колбе обрабатывали в течении 10 ч смесью хлороформа и метанола (2:1) в присутствии обратного холодильника. Полученный экстракт выпаривали на роторном испарителе, затем осадок растворяли в гексане. Гексановый экстракт трехкратно очищали дистиллированной водой в делительной воронке и подвергали метилированию в присутствии раствора метилата натрия. Идентификацию компонентов осуществляли с использованием библиотеки масс-спектров «NIST11».

В ходе проведенных работ установлено, что основной вклад в жирнокислотный состав перидия *T. macrosporum* вносят стеролы (около 50 %, относительное содержание), а в состав глебы – полиненасыщенные жирные кислоты (около 58 %). Установлено, что содержание мононенасыщенных жирных кислот перидия значительно ниже, чем в глебе плодовых тел *T. macrosporum*. Показано, что преимущественно все жирные кислоты и низкомолекулярные метаболиты обнаружены как в образцах перидия, так и в образцах сердцевинки глебы. В то же время, выявлены и

специфические маркеры. Так, только в образцах перидия *T. macrosporum* были обнаружены нонадециловая кислота и эргоста -5,22-диен-3 -ол.

Таким образом, в ходе проведенных работ впервые описан жирнокислотный состав черного русского трюфеля *T. macrosporum* и показано, что данные трюфели не уступают по качеству и количеству жирных кислот трюфельным грибам, собираемым в Италии. Вместе с тем, русский трюфель превосходит по качеству и количеству содержание жирных кислот в грибах, выращенных в Китае (Martin et al., 2010).

Принимая во внимание биологическую активность вышеуказанных жирных кислот, показано, что трюфельные грибы обладают выраженным биофармацевтическим потенциалом. Так, в исследовании (Tan, Fu, 2003) описана активность пентадециловой кислоты, которая проявляется в ингибировании стероидной 5 α -редуктазы. Также, пентадециловая кислота широко используется в качестве вкусового и ароматического ингредиента продуктов питания. Известно, что гексадеценовая кислота (пальмитолеиновая) является индуктором прорастания семян и обладает защитным свойством для кровеносных сосудов. Данное природное соединение проявляет активность в лечении кариеса и является сильным альгицидом. Линолевая кислота является предшественником простагландинов, а олеиновая обладает выраженным фунгицидным, гербицидным и инсектицидным действием (Lin et al., 2008). Наличие в жирнокислотном составе как мононенасыщенных, так и полиненасыщенных жирных кислот придает российскому черному трюфелю высокую значимость и открывает большие перспективы в области экспериментального трюфельводства.

Исследование проведено при финансовой поддержке проектов Российского научного фонда 20-76-00001 и 22-76-10036.

Список литературы

1. Berch S. M., Bonito G. Truffle diversity (*Tuber*, *Tuberaceae*) in British Columbia // *Mycorrhiza*. – 2016. – Т. 26. – №. 6. – С. 587-594.
2. Martin F. et al. Périgord black truffle genome uncovers evolutionary origins and mechanisms of symbiosis // *Nature*. – 2010. – Т. 464. – №. 7291. – С. 1033-1038.
3. Tan Z., Fu S. Issues on truffle harvesting and trade in China // *Edible fungi of China*. – 2003. – Т. 22. – №. 4. – С. 3-5.
4. Lin Q., Han D., Liu C. Y. Natural resources of truffles and analysis on the industry development in western Panzhihua // *Panzhuhua SciTech Inf*. – 2008. – Т. 33. – №. 1. – С. 36-41.

СИНТЕЗ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ МИКРОМИЦЕТАМИ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА МОДИФИЦИРОВАННЫХ СРЕДАХ

Насибов Э.М., Гордонова И.К., Никитина З.К.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР), Москва

Протеазы играют важную роль в метаболизме всех живых организмов. Кроме их очевидного участия в гидролизе белков и пептидов, эти ферменты регулируют широкий спектр физиологических процессов, контролируя различные стадии синтеза, активации - инактивации белка, передачи генетических сигналов, определяющих состояние различных систем организма [1]. Протеазы и ингибиторы

протеаз, составляющие более 2% генома человека, не только обеспечивают нормальное функционирование и поддержание гомеостаза, но и влияют на иммунитет, воспаление и развитие болезней [2]. Например, такие характерные для опухолей черты, как неконтролируемый рост, ангиогенез, метастазирование, уклонение от иммунитета могут быть связаны с различными aberrантными протеазными

активностями. С другой стороны, было обнаружено, что протеазы играют решающую роль в подавлении опухоли [3]. Таким образом, протеазы используются для прогностических, диагностических, а также терапевтических целей [3]. В связи с решающей ролью этих ферментов в жизненном цикле всех организмов, в том числе инфекционных агентов, протеолитические ферменты становятся основой новых лекарственных средств для контроля инфекций, вызванных вирусом иммунодефицита человека, коронавирусом [4, 5]. Кроме этого, существуют другие применения протеаз в области медицины, такие как профилактика и лечение сердечно-сосудистых и воспалительных заболеваний, расстройств пищеварения, а также активация регенеративных процессов при ожогах, переломах, случайных или хирургических травмах [1, 6, 7].

Источниками протеаз являются животные, растения и микроорганизмы. Значительный интерес к протеазам микроорганизмов связан с рядом преимуществ при их использовании [8]: неограниченные источники получения; высокие скорости роста, определяющие возможные темпы производства; отсутствие влияния климатических факторов [9]. Кроме того, учитывая различные условия среды, из которой выделены изоляты, можно получать ферменты с желаемыми характеристиками [10]. Например, для синтеза термостабильных протеаз, перспективно использование термофильных бактерий, растущих в горячих источниках [11]. Короткое время генерации и относительно простой геном обеспечивают возможность генетических манипуляций с микроорганизмами [12], что, в свою очередь, открывает перспективы для получения «индивидуальных» ферментов с желаемыми свойствами. Одной из проблем при работе с животными является наличие этических проблем, которые отсутствуют в случае протеаз микробного происхождения [13]. Способность микробов продуцировать внеклеточные ферменты еще больше упрощает способы их получения, как в лабораторных условиях, так и в производственном процессе [14]. Возможность использования при культивировании продуцентов относительно дешевых субстратов или даже отходов также обеспечивает дальнейшее повышение экономичности [15].

Цель работы – изучение протеолитической активности микромицетов при культивировании на модифицированных средах для поиска перспективных продуцентов.

Таблица 1. Изменение концентрации белка (мг/мл) в процессе культивирования микромицетов

Время, сутки	№ штамма				
	F 22	F 25	F 38	F 33	F 57
0 - 2	0	0	0	0	0
3	8,2±0,3	9,6±0,2	4,6±0,1	12,8±0,3	12,6±0,3
4	5,6±0,1	7,6±0,1	4,6±0,1	11,2±0,2	10,8±0,1
5	9,0±0,2	6,2±0,1	5,2±0,1	13,6±0,3	13,6±0,3
6	9,6±0,2	7,2±0,1	6,2±0,2	9,2±0,1	9,0±0,1
7	10,8±0,2	8,2±0,2	8,6±0,2	14,4±0,2	14,2±0,2
8	7,6±0,2	6,2±0,1	5,2±0,1	16,0±0,3	15,6±0,2
9	6,6±0,1	7,6±0,1	4,6±0,1	17,4±0,1	16,8±0,1

Проведенное определение общей и удельной протеолитической активности подтвердило секрецию протеаз в культуральную жидкость всех исследованных микромицетов. При этом, максимальная общая и удельная ПЕ были отмечены у культуры *A. fumigatus* F 22 (табл. 2), которые

В качестве биообъектов использовались дейтеромицеты из музейной коллекции ФГБНУ ВИЛАР: *Aspergillus fumigatus* F 22, *A. sydowii* F 25, *Botrytis terrestris* F 38, *Cladosporium herbarum* F 33, 57. Состав агаризованной питательной среды Чапека для выращивания спорowego материала культур (%): NaNO₃ - 0,2; KH₂PO₄ - 0,1; MgSO₄ x 7H₂O - 0,05; KCl - 0,05; FeSO₄x 7H₂O - 0,001; CaCO₃ - 0,3; сахаразы - 2; агар - 2.

При проведении глубинного культивирования посевным материалом служила суспензия спор дейтеромицетов (108 спор на 100 мл среды). Культивирование осуществляли в колбах объемом 300 мл с 100 мл питательной среды на качалке при скорости вращения 220 об/мин при 260С с использованием жидкой модифицированной среды Чапека с частичной заменой сахарозы на коллаген (0,5% сахарозы и 1,5% коллагена). Через каждые сутки отбирали пробы, которые фильтровали через мембранный фильтр Minisart NLM (Sartorius) с диаметром пор 0,2 мкм. В фильтрах культуральной жидкости определяли концентрацию белка по Лоури, сахарозы с антроновым реактивом, общую протеолитическую активность (ПЕ) по методу Ансона [16]. Удельную протеолитическую активность рассчитывали как отношение ПЕ на мг белка.

Статистическую обработку результатов проводили на персональном компьютере с помощью пакета статистических программ Microsoft Office Excel 2010, рассчитывая доверительные интервалы для уровня значимости $\alpha \leq 0,05$.

Ранее нами было показано, что при глубинном культивировании микромицетов на среде Чапека не происходит заметного синтеза протеолитических ферментов в течение 7-10 суток [17]. Поскольку синтез гидролаз микроорганизмами часто носит индуцибельный характер и проявляется в ответ на введение соответствующего субстрата [18], нами была проведена модификация среды Чапека с частичной заменой сахарозы на коллаген. Предполагалось, что коллаген – нерастворимый фибриллярный белок, может индуцировать синтез протеаз. Обнаружено, что к 3-4 суткам культивирования происходила полная утилизация сахаразы из питательной жидкости, после чего наблюдался активный синтез внеклеточного белка (табл. 1).

фиксировалась на ранних сроках культивирования: 3 и 4 сутки соответственно. Аналогичные показатели других грибов были значительно ниже и наблюдались на более поздних этапах

Таблица 2. Максимальные значения ПЕ в процессе культивирования микромицетов

№ штамма	ПЕ/мл10 ²	Время,сутки	ПЕ/мг10 ²	Время, сутки
F 22	101±9	3	73±6	4
F 25	38±4	8	37±4	8
F 38	30±3	6	45±5	9
F 33	18±2	6	35±4	6
F 57	28±3	7	13±2	6

Таким образом, показано, что модификация питательных сред путем частичной замены сахарозы на белок приводит к активации синтеза протеаз у микромицетов. Из всех исследованных грибов, наибольшие значения общей и удельной протеолитической активности зафиксированы у *Aspergillus fumigatus* F 22, что делает эту культуру перспективной для дальнейшего изучения в качестве продуцента протеаз.

Список литературы

- Bond JS., Proteases: history, discovery, and roles in health and disease // J Biol Chem – 2019; 294:1643–1651.
- Patel S, Homaei A, El-Seedide HR, Akhtar N., Cathepsins: proteases that are vital for survival but can also be fatal // Biomed Pharmacother – 2018; 105:526–553.
- Dudani JS, Warren AD, Bhatia SN., Harnessing protease activity to improve cancer care // Annu Rev Cancer Biol – 2018; 2:353–376.
- Tigabu BM, Agide FD, Mohraz M, Nikfar S., Atazanavir/ritonavir versus Lopinavir/ritonavir-based combined antiretroviral therapy (cART) for HIV-1 infection: a systematic review and meta-analysis // Afr Health Sci – 2020; 20:91–101.
- Jo S, Kim S, Shin DH, Kim M-S., Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids // J Enz Inhib Med Chem – 2020; 35:145–151.
- Kumar L, Jain SK., Proteases: a beneficial degradative enzyme in therapeutic applications // Inter J Sci Res Biol Sci – 2018; 5:114–118.
- Agbowuro AA, Huston WM, Gamble AB, Tyndall JDA Proteases and protease inhibitors in infectious diseases // Med Res Rev – 2018; 38:1295–1331.
- Singh R, Kumar M, Mittal A, Mehta PK., Microbial enzymes: industrial progress in 21st century // 3 Biotech – 2016; 6:174.
- Bhatia RK, Ullah S, Hoque HZ, Ahmad I, Yang YH, Bhatt AK, Bhatia SK., Psychrophiles: a source of cold-adapted enzymes for energy efficient biotechnological industrial processes // J Envir Chem Eng – 2021; 9:104607.
- Putatunda C, Kundu BS, Bhatia R., Purification and characterization of alkaline protease from *Bacillus* sp. HD292 // Proc Natl Acad Sci India B Biol Sci – 2019; 89:957–965.
- Sahay H, Yadav AN, Singh AK et al., Hot springs of Indian Himalayas: potential sources of microbial diversity and thermostable hydrolytic enzymes // 3 Biotech – 2017; 7:118.
- Ali N, Ullah N, Qasim M, Rahman H, Khan SN, Sadig A et al., Molecular characterization and growth optimization of halotolerant protease producing *Bacillus subtilis* Strain BLK-1.5 isolated from salt mines of Karak, Pakistan // Extremophiles – 2016; 20:395–402.
- da Silva RR., Bacterial and fungal proteolytic enzymes: production, catalysis and potential applications // Appl Biochem Biotechnol – 2017; 183:1–19.
- Razzaq A, Shamsi S, Ali A, Ali Q, Sajjad M, Malik A, Ashraf M., Microbial proteases applications // Front Bioeng Biotechnol – 2019; 7:110.
- Limkar MB, Pawar SV, Rathod VK., Statistical optimization of xylanase and alkaline protease co-production by *Bacillus* sp. using Box-Behnken Design under submerged fermentation using wheat bran as a substrate // Biocatal Agric Biotechnol – 2019; 17:455–464.
- Кусакина М.Г., Суворов В.И., Чудинова Л.А. Большой практикум «Биохимия». Лабораторные работы: учеб. пособие. // Перм. гос. нац. исслед. ун-т.- Пермь - 2012.- 148 с.
- Никитина З.К., Быков В.А. Особенности использования микроорганизмов-продуцентов биологически активных веществ // Вопросы биол., мед. и фарм. химии - 2012; № 1: 75-80.
- Solanki, P., Putatunda, C., Kumar, A. et al. Microbial proteases: ubiquitous enzymes with innumerable uses // 3 Biotech - 2021; 11: 428.

ЭФФЕКТИВНЫЕ ГРИБНЫЕ БИОПРЕПАРАТЫ ДЛЯ БОРЬБЫ С БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И ПОВЫШЕНИЯ ИММУНИТЕТА

Нугманова Т.А.¹, Кабаргина М.В.¹, Малюченко О.П.², Шелепова О.В.,

Кондратьева В.В.³

¹ООО «БИОИН-НОВО», Москва

²Всероссийский НИИ сельскохозяйственной биотехнологии, Москва

³Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина, Москва

Известно, что грибные патогены растений наносят существенный экономический вред сельскохозяйственным посевам, вызывая потери урожая до 25-30 %, они также несут и опасность здоровью человека и животных выделяя микотоксины, попадающие в растения и затем в пищу. Коммерческий риск и потери несут компании - производители овощей, фруктов, зерна, орехов и кофе, в том числе в период хранения урожая и при его транспортировке на большие расстояния. Основная причина этих явлений в том, что не всегда проводится биозащита растений в процессе их выращивания, не используются эффективные биопрепараты для обработки семенного фонда и почвы перед посадкой. Так, в плодах, пораженных фитопатогенными грибами, накапливаются микотоксины: зеараленон и его производные, афлатоксины: В1, В2, G1, охратоксин, патулин. Наиболее эффективным представляется использование нескольких разноплановых биопрепаратов: например биофунгицида и иммуномодулятора, а также в комплексе с биоудобрениями.

В настоящей работе представлены экспериментальные материалы по применению комплекса биопрепаратов в качестве примера для защиты овощных культур и кофе от грибных болезней. Для обеспечения эффективности биофунгицида в первую очередь проводилась работа по выявлению конкретного патогена и скрининга коллекции штаммов грибов рода *Trichoderma* по их биоэффективности методом встречного посева с последующим определением времени полного поглощения. Были использованы зараженные листья кофе с плантации "Eco Friendly Agro Organic Concept Pvt.Ltd" *Palungtaar Municipality* Непала.

С объекта, полученного с плантации кофе был выделен грибной фитопатоген. Была просканирована коллекция грибов рода *Trichoderma* из 64 разных штаммов с целью выявления наиболее активных вариантов для борьбы с этой инфекцией.

Для выделения патогенов использовали агаризованную питательную среду Чапека следующего состава (г/л):

сахароза-30,0; NaNO₃ -3,0; KН₂ PO₄- 1,0; MgSO₄ .7 H₂ O; KCl-0,5; FeSO₄. 7H₂ O-0,01; агар-агар-15,0. Объекты выращивали при T=24-26 о С в течение 5-7 суток в термостате. Микроскопирование культур проводили на микроскопе марки «Микромед» при увеличении 10х40 методом раздавленной капли и 10х90 с иммерсией. Для получения биомассы для проведения молекулярно-генетической экспертизы продуценты выращивали в течение 2-3 суток.

Проводили выделение ДНК, после чего осуществляли секвенирование. Использовали метод молекулярной идентификации, основанный на секвенировании по Сенгеру ITS1/2 фрагмента кластера рибосомальных генов. ITS1 и ITS2 регионы, фланкирующие 5.8S рДНК ген, показывают значимую нуклеотидную дивергенцию

на межвидовом уровне. Сравнение полученных последовательностей по базам данных (NCBI, ExTaxon и т.п.) позволяет с высокой вероятностью определить видовую принадлежность образца и метод признан "золотым стандартом" в видовой идентификации грибов.

Опытные образцы жидкого биофунгицида нарабатывали используя наиболее активные штаммы, выявленные в процессе анализа результатов «встречных посевов». Каждый штамм культивировали отдельно на комплексных питательных средах, содержащих три разных гидролизата белкового сырья. Время культивирования составило 2 суток при T=24-260C. За состоянием биомассы и образованием хламидоспор следили по результатам микроскопирования. Через 48 часов процесс культивирования заканчивали и в культуральную жидкость вносили компоненты товарной формы: стабилизатор, смачиватель, прилипатель, загуститель[1,2]

В результате молекулярно-генетического анализа было установлено, что кофе поражен мукоровым грибом *Cunninghamella echinulata*. Это вид мукоровых зигомицетовых грибов, наиболее известный вид рода Куннингамелла (*Cunninghamella*). Гетероталличный (раздельнополюй) вид (табл. 1).

Таблица 1.

Результаты молекулярно-генетического анализа патогенов кофе

№ образца	Последовательность	Видовая принадлежность
№ 5- выделен из кофе	GTGTACCTGCGGAGGWCATTAACATATTTGTGGGGGAAGTATTCTATTCGAATCTTTCACCATTAATTCATCCATAATGTGGGTCAAACCACATGCGCAATGTTTTTTTAAAGGGTTAACTTTCGGGTAC TACTCTTTATTTATATAATATGGCCTAAAAAACCATATATTAATTTTTTATACTAAATTTACT AATAAACGATTGACCATAATTTATGGTTGTTTTAAAAATATATTAATTTATATAAAAAACAACSTT CAGCAATGGATCTCTCGGCTTTCGATCGATGAAGAACGCAGCAAATCGCGATATTTAATGTGAT CTGCSTATAGTGAATCATCAAATCTTTGAACGCATCTTGCACCCTATGGTATTCGATAGGGTACAT CTGTTTCAGTACCATTCAAACATCTCCSTCAATCCTTTTTTTTTTTAAAAAAGA	<i>Cunninghamella echinulata</i>

Для обеспечения эффективности экспериментальный образец биофунгицида составили из наиболее активных штаммов грибов *Trichoderma asperellum*, а именно № 16,20,27,32,47 собственной коллекции. Биопрепарат показал высокую биологическую эффективность в подавлении инфекции. Так, время полного поглощения культуры патогена не превышало 5 суток.

Разработана экспериментальная композиция комплексного биофунгицида, эффективно подавляющая рост и развитие инфекции на кофе. В результате проведенной работы можно рекомендовать проведение испытаний экспериментальных образцов биофунгицида в условиях естественного произрастания растений кофе на плантациях с целью определения его биологической и коммерческой эффективности.

Для повышения иммунитета растений использовали «Биоудобрение Никфан», которое мы производим из эндофитных грибов. Биологическую эффективность препарата определяли на огурце различных вариантов селекции в агрофирме «Поиск». Биоудобрение «Никфан,ж» разработано для повышения иммунитета, стимуляции роста и развития растений. Оно было испытано на широком ассортименте растений: на овощах, зерновых культурах, фруктовых деревьях и кустарниках, цветах, травах в разных странах: России, Колумбии, Африке, Индии, Китае, Болгарии, Казахстане, Литве. Основными эффектами, наблюдающимися при обработке семян и затем вегетативной массы растений являются следующие:

повышение энергии прорастания и всхожести семян и клубней;
увеличение корнеобразования (длины и толщины корней, количества тонких корешков); размера плодов

усиление азотфиксации, фотосинтеза, листовой поверхности растений и, как следствие этого, повышение урожайности; повышение морозоустойчивости и засухоустойчивости; ускорение созревания на 1,5-2 недели.

повышение устойчивости к грибным заболеваниям и снижение количества применяемых химических фунгицидов;

повышение качества растений (увеличения содержания клейковины зерна, технологических свойств волокна, сахаристости, витаминов;

увеличение прироста побегов, кустистости, снижения опаздывания завязей;

ускорение созревания на 1,5-2 недели.

. Обработку семян проводили 0,8 % рабочим раствором биопрепарата в течение 1 часа, затем в фазе 1-2 настоящих листьев в концентрации 0,3% каждые 10 дней. Отмечено, что рассада характеризуется более насыщенным зеленым цветом, выглядит крепкой и здоровой в сравнении с контролем. В результате обработки растений проводили сбор плодов, определяя количество плодов, общий вес, средний вес плода [3,4]. Учет проводили каждые 2-3 дня. В табл.2 представлены итоговые результаты.

Таблица 2

Результаты применения биопрепарата Никфан в семеноводстве огурца

Биоудобрение Никфан, партия № 25		
Количество плодов	Вес плодов, г	Средний вес 1 плода, г
1128 (49,8%)	86875 (55,9%)	74,6 (6,1 %)
753	55720	70,3

Анализ проницаемости клеточной стенки листьев огурца и содержание ионов K^+ и Na^+ показало, что выход ионов K^+ в элюат относительно их общего содержания в клетках составляет в % от 2,60 до 5,36 в зависимости от сорта огурца в контроле до 1,60 до 2,44 в опыте, что подтверждает увеличение упругости листьев. Анализ содержания хлорофилла «а» увеличивается с 1,03 - 1,53 мг / г сырого вещества в зависимости от сорта огурца в контроле до 1,81 в опыте, а хлорофилла «б» от 0,45 до 0,70.

Таким образом, применение биопрепарата Никфан при семеноводстве огурца способствует увеличению продуктивности растений по количеству плодов на 39,5 %, по весу плодов на 51 %, среднему весу плода не менее, чем на 27 %. Биопрепарат Никфан увеличивает также упругость листьев и содержание в них хлорофилла.

Список литературы

1. Нугманова Т. Biopreparation for the production of environmentally safe food . Part 1. Ecological engineering and environment protection, 2017, #2, p.63-70, Bulgaria.
2. Nugmanova T, Chistyakova L, Petra I, Shelepova O, Kondratëva V. Biopreparation for the production of environmentally safe food Part 2. Ecological engineering and environment protection, 2017, #2, p.70-74, Bulgaria.
3. Нугманова Т. Биопрепараты в овощеводстве и картофелеводстве. ж. Картофель и овощи, № 6, стр. 2-4, Москва.
4. Нугманова Т. Чистякова Л, Петра И, Шелепова О, Кондратьева В., Бакланова О. Никфан на огурце ж. Картофель и овощи, № 10, стр.17-18, Москва.

ПОДБОР ГЕРБИЦИДОВ ДЛЯ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ С ГРИБОМ *SALOPHOMA COMPLANATA* ПРОТИВ БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО НА НЕПАХОТНЫХ ЗЕМЛЯХ

Павлова Н.А.¹, Берестецкий А.О.¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

Использование фитопатогенных грибов как агентов биологического контроля может являться одним из альтернативных способов борьбы с сорными растениями [1]. У микромицетов из различных таксономических групп выявлен микогербицидный потенциал в отношении многих видов сорных растений [2, 3, 4, 5]. В мире известно чуть более 10 зарегистрированных биогербицидов [6]. Основными причинами такой ситуации является более низкая эффективность микогербицидов в полевых условиях по сравнению с химическими гербицидами [7]. Эффективность живых организмов биологических препаратов можно повысить, совмещая с сублетальными дозами химических гербицидов, подавляющих защитные функции растений.

Несмотря на предпринимаемые усилия по борьбе с борщевиком Сосновского, вид остается проблемным на территории северо-западного и центрального регионов России [8]. Борются с растениями борщевика в основном механическим способом и применением химических гербицидов [9]. Определенный микогербицидный потенциал выявлен у штамма ВИЗР 1.40 *Calophoma complanata* [10,11]. Данный вид является узкоспециализированным патогеном семейства *Ariaceae*. Несмотря на высокую патогенность в лабораторных опытах, в полевых условиях степень поражения борщевика грибом была значительно ниже. Цель работы – изучить совместимость гриба *S. complanata* с синтетическими гербицидами, разрешенными для борьбы с трудноискоренимыми сорными растениями на приусадебных участках и парах в РФ.

В экспериментальной работе использованы гербициды Деймос, ВРК (действующее вещество дикамба), Агрокиллер, ВР (д.в. глифосат), Магнум, ВДГ (д.в. метсульфурон-метил) и Лазурит, СП (д.в. метрибузин), рекомендованные для использования на непахотных землях. Их нормы расхода выше по сравнению с используемыми в полевых условиях и составляют для Деймос – 3 л/га, Агрокиллер – 5 л/га, Магнум – 0,3 кг/га и Лазурит – 1,4 кг/га. Исследования проведены в указанных концентрациях и при 80, 60, 40, 20, 10% от нормы расхода препарата.

Для изучения влияния гербицидов на рост штамма 1.40 *S. complanata* картофельно-сахарозную агаризованную среду (КСА) разливали в 250 мл колбы по 100 мл, после стерилизации среду расплавляли и поддерживали температуру 50°C. Затем в каждую колбу добавляли соответствующее количество испытуемого гербицида, колбы интенсивно встряхивали, среду разливали в чашки Петри. С края 10 суточной колонии гриба на КСА при помощи пробойника вырезали диски диаметром 5 мм, которые по одному помещали на питательный агар в центр чашки Петри. Чашки инкубировали в термостате при 24°C в темноте. Диаметр колоний измеряли на 7 сутки. Влияние гербицидов на прорастание конидий *S. complanata* 1.40 оценивали путем прорастания конидий на водном агаре (ВА) с различными концентрациями испытуемых препаратов. Через 18 часов инкубации при температуре 20° С предметные стекла просматривали под микроскопом, фотографировали конидии, подсчитывали долю проросших конидий, всего 100 конидий на повторность.

При использовании максимальной рекомендованной концентрации испытанные гербициды проявили фунгистатический эффект и замедляли рост колоний штамма 1.40 *S. complanata* на 80-90% по сравнению с контролем (вода), за исключением Лазурита, в варианте с которым диаметр колоний на 7 сутки достигал более 30% от контроля (Таб. 1). Среди испытанных гербицидов наиболее сильными антифунгальными свойствами обладал Агрокиллер: при минимальной используемой концентрации этого препарата диаметр колоний *S. complanata* на 7 сутки достигал 66 % от контроля. При добавлении препарата Деймос в 10 % концентрации от полной нормы расхода размер колоний составил примерно 70% от контроля. Наименьшая чувствительность штамма 1.40 *S. complanata* к исследуемым препаратам выявлена в вариантах 10-20% концентрации от полной нормы расхода гербицидов Лазурит и Магнум. Размер колоний на КГА с Лазуритом достигал 86% от контроля. При добавлении Магнум диаметр колоний превышал 89% по сравнению с контролем.

Таблица 1. Влияние гербицидов на рост колоний штамма 1.40 *S. complanata*

Гербициды	Диаметр колоний (мм) на КСА с различными концентрациями гербицидов на 7 сут (% от контроля).						
	100	80	60	40	20	10	0
Деймос	10.5±0.2* (19.0)	11.5 ± 0.8 (20.8)	13.6±0.7 (24.6)	29.9 ± 0.5 (36.2)	32.8 ± 1.5 (59.1)	38.6 ± 1.9 (69.6)	55.4±2.1
Агрокиллер	6.6±0.2 (11.9)	6.9 ± 0.1 (12.4)	8.8±0.7 (15.8)	17.4 ± 0.3 (31.4)	27.8 ± 1.1 (50.0)	36.3 ± 2.0 (66.0)	55.4±2.1
Магнум	11.8±1.3 (15.4)	13.3 ± 0.8 (17.4)	24.0±0.9 (31.4)	27.6 ± 1.8 (36.2)	68.5 ± 0.8 (89.7)	72.4 ± 0.7 (94.7)	76.4±1.5
Лазурит	24.5±0.3 (32.1)	32.8 ± 0.5 (42.9)	38.3±1.3 (50.1)	52.9 ± 0.4 (69.3)	63.0 ± 0.7 (82.5)	65.5 ± 1.4 (85.8)	76.4±1.5

*- ошибка средней

При использовании максимально рекомендованной и 80%-ной концентрации от максимальной нормы применения препаратов Деймос, Агрокиллер, Лазурит прорастание конидий *S. complanata* 1.40 полностью подавлялось (Таб. 2). Гербицид Агрокиллер ингибировал прорастание конидий при всех испытанных концентрациях. Доля проросших конидий по отношению к контролю повышалась до 90%

при использовании Магнума в 60%-ной концентрации от рекомендуемой дозы, в вариантах с Лазуритом и Деймосом - при 40% концентрации. Следует отметить, что наименее чувствительным *S. complanata* 1.40 был к препарату Магнум: при всех испытанных концентрациях полученный процент проросших конидий составлял от 23 до 100%.

Таблица 2. Влияние различных концентраций гербицидов на прорастание конидий штамма 1.40 *S. complanata*

Гербициды	Количество проросших конидий (%) при различных концентрациях гербицидов.						
	100	80	60	40	20	10	0
Деймос	0	9.0±3.3	9.5±3.3	85.0±0	90.0±0	96.3±2.4	99.0±0.6
Агрокиллер	0	0	0	0	0	0	99.0±0.6
Магнум	23.3±1.2	45.3±7.0	90.0±0.0	96.5±1.0	97.5±1.8	99.8±0.3	99.5±0.3
Лазурит	0	0	65.5±1.7	90.0±3.5	97.3±0.3	100.0±0.0	99.5±0.3

Таким образом, возможно совместное применение *S. complanata* 1.40 с пониженными концентрациями (в 2-4 раза) гербицидов Магнум, Лазурит и Деймос. Однако в дальнейшем требуется оценка эффективности смесей инокулятора *S. complanata* 1.40 и химических гербицидов в лабораторных и полевых условиях.

Список литературы

1. Гасич Е.Л., Хлопунова Л.Б., Берестецкий А.О. Влияние адьювантов на патогенность *Calophoma complanata* для борщевика Сосновского // Актуальная биотехнология. 2019. №. 30 (3). С. 241–244.
2. Aneja K.R. Exploitation of phytopathogenic fungal diversity for the development of bioherbicides // Kavaka. 2014. Vol.42. P. 7–15.
3. Bailey K.L. The bioherbicide approach to weed control using plant pathogens // In: Integrated Pest Management: Current Concepts and Ecological Perspective (Ed.: Abrol, D. P.). San Diego, CA:Elsevier. 2014. P. 245–266.
4. Kumar V., Aneja K.R. Management of horse purslane (*Trianthema portulacastrum* L.): An overview // Res. J. Botany. 2016. V. 11. P. 25–32.
5. Kremer J. Robert Bioherbicides and nanotechnology: Current status and future trends // In O. Koul (ed.), Nanobiopesticides Today and Future Perspectives, Academic Press, Amsterdam, The Netherlands. 2019. pp. 353–366.
6. Cordeau, S., Triolet, M., Wayman, S., Steinberg, C., Guillemin, J.P. Bioherbicides: Dead in the water? A review of the existing products for integrated weed management // Crop protection. Vol. 87. P. 44-49.
7. Gressel J. Herbicides as synergists for mycoherbicides, and vice versa // Weed Science. 2010. Vol. 58. P. 324-328.
8. Панасенко Н.Н. Некоторые вопросы биологии и экологии борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.). Российский журнал биологических инвазий. 2017. Т. 10 (2). С. 95-106.
9. Якимович Е.А., Шкляревская О.А., Пекутько С.А., Ницевич С.А. Гербициды против борщевика Сосновского // Наше сельское хозяйство. 2018. Октябрь. 2–19.
10. Гасич Е. Л., Хлопунова Л. Б., Берестецкий А. О., Сокорнова С. В. Штамм гриба *Phoma complanata* (Tode) Desm. 1.40 (ВИЗР), обладающий микогербицидной активностью против борщевика Сосновского / Пат. 2439141 Российская Федерация, МПК С 12 N 1/14, А 01 N 63; ФГБНУ ВИЗР, заявл. 06.10.10; опубл. 10.01.12.
11. Гасич Е.Л., Берестецкий А.О., Хлопунова Л.Б. Микобиота видов *Heracleum* на территории Северо-западного региона Российской Федерации и микромицеты, перспективные для контроля *Heracleum sosnowskyi* // Микология и фитопатология. 2013. Т. 47 (5). С. 333-342.

МИКОПОЛИМЕРЫ НА ОСНОВЕ АГАРИКОМИЦЕТОВ: РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

Попыванов Д.В.

Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого, Киров, Россия

Значительное использование ископаемых углеводов в полимерной промышленности вносит весомый вклад в ухудшение экологической обстановки планеты. В связи с этим, актуальной задачей исследователей становится поиск альтернативных способов производства полимерных материалов на основе возобновляемых источников сырья (биополимеров). Базиальные грибы – один из способов получения микополлимеров – материалов на основе растительных частиц, связующим компонентом в которых выступает мицелий гриба [1,2,3,4].

На базе ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого проводятся исследования по поиску штаммов базиальных грибов из местных биоценозов с целью создания микополлимерных материалов. В качестве растительных частиц, выступающих наполнителем в микополлимерах, исследуется возможность биоконверсии растительных отходов сельскохозяйственного и лесопромышленного комплексов Кировской области.

В результате исследований получено 24 лабораторных образца микополлимеров на основе 12 штаммов дереворазрушающих грибов. На основе визуального и тактильного анализа полученных образцов, было установлено, что образцы на основе *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes hirsuta*, *Trametes versicolor*, *Trametes pubescens*, *Phellinus igniarius* и *Fomitopsis pinicola* обладают низкой механической прочностью, крошатся, пачкают поверхности. В результате образцы на основе вышеперечисленных штаммов из дальнейшего исследования были исключены. Высокой механической прочностью характеризовались образцы на основе штаммов *Ganoderma lucidum*, *Ganoderma applanatum*, *Trametes ochracea*, *Fomes fomentarius* FF1/FF2.

Образцы с высокой механической прочностью были исследованы на теплопроводность с использованием измерителя теплопроводности ИТЭМ-1М на базе кафедры инженерной физики Вятского государственного университета. Полученные средние значения теплопроводности для всех образцов были близки к $0,033 \pm 0,002$ Вт/м²К, что свидетельствует о высоких теплоизолирующих свойствах материала.

Вычислена плотность полученных образцов. Установлено, что значения плотности в значительной степени зависят от используемого субстрата. Так, плотность биополимеров на основе опила березы (190 кг/куб.м.) была выше, чем на основе опила осины (146 кг/куб.м.).

Максимальная механическая прочность на сжатие при 10%-ной линейной деформации микополлимеров составила 0,12 МПа, что выше, чем, например, у пенопласта марки ПСБ-с25 (0,08 МПа).

Полученные сведения позволяют рассматривать данные биополимеры в качестве перспективного источника сырья для производства упаковки, предметов интерьера и в автомобилестроении.

Список литературы

1. Yang Z., Zhang F., Still B., White M., & Amstislavski P. Physical and mechanical properties of fungal mycelium-based biofoam // Journal of Materials in Civil Engineering. – 2017. – Т. 29. – №. 7. – С. 04017030. <https://ascelibrary.org/doi/10.1061/%28ASCE%29MT.1943-5533.0001866>
2. Alves R. M. E., Alves M. L., Campos M. J. Morphology and thermal behaviour of new mycelium-based composites with different types of substrates // International Conference of Progress in Digital and Physical Manufacturing. – Springer, Cham, 2019. – С. 189-197. https://doi.org/10.1007/978-3-030-29041-2_24
3. Appels F. V., Camere S., Montalti M., Karana E., Jansen K. M., Dijksterhuis J., ... & Wösten H. A. Fabrication factors influencing mechanical, moisture-and water-related properties of mycelium-based composites // Materials & Design. – 2019. – Т. 161. – С. 64-71. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2018.11.027>
4. Vandeloock, S., Elsacker, E., Van Wylick, A., De Laet, L., & Peeters, E. Current state and future prospects of pure mycelium materials // Fungal biology and biotechnology. – 2021. – Т. 8. – №. 1. – С. 1-10. <https://doi.org/10.1186/s40694-021-00128-1>

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ pH-СТАТИРОВАНИЯ НА РОСТ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ РОДА *PENICILLIUM* И СИНТЕЗА ИМИ ГЛЮКОЗООКСИДАЗ

Семашко Т.В., Климович Н.Д., Жуковская Л.А.

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Глюкозооксидаза – фермент класса оксидоредуктаз, который является одним из самых востребованных ферментов в медицинской диагностике [1]. Фермент имеет широкое применение в различных отраслях легкой про-

мышленности, активно используется в медицине для клинической диагностики и в биотопливных элементах [2-5]. Востребованность глюкозооксидазы в различных сферах деятельности человека приводит к необходимости поиска

продуцентов, синтезирующих данный фермент, а также разработки технологий его получения.

Известно, что рост мицелиальных грибов и синтез ферментов в значительной степени зависят от состава питательных сред и условий их культивирования. Рядом исследователей установлено, что образование глюкозооксидаз грибами зависит от концентрации водородных ионов в среде. Водородный показатель является важным фактором, влияющим на физиологию микроорганизма путем воздействия на растворимость и поглощение питательных веществ, активность ферментов, морфологию клеточных мембран, образование продуктов и окислительно-восстановительные реакции. Изменение pH, наблюдаемое во время роста микроорганизмов, также может влиять на стабильность метаболитов в среде. В большинстве случаев высокий уровень продуцирования ферментов отмечается при проведении процесса культивирования в диапазоне pH 5,0-7,0 [1, 6-10]. Во многих процессах буферная способность некоторых компонентов среды, таких как CaCO₃ и фосфатов, иногда устраняет необходимость контроля pH [7, 11].

Цель работы – изучение влияния pH-стагирования на рост мицелиальных грибов рода *Penicillium* (*Penicillium adametzii* и *P. funiculosum*) – продуцентов глюкозооксидаз и биосинтез ими вышеуказанных ферментов в условиях глубинного культивирования.

Культивирование грибов проводили глубинным методом в колбах Эрленмейера объемом 250 мл с 50 мл питательной среды оптимальной для каждого продуцента на шейкере-инкубаторе WIS-10R (180 об/мин) при комнатной температуре 24-26 °C в течение 96 ч. Посевным материалом служила водная суспензия спор грибов. В качестве источника углерода для *P. adametzii* использовалась 6 % глюкоза, для *P. funiculosum* – 6 % сахароза. В экспериментах значения pH питательных сред поддерживали на уровне 3,0; 5,0; 7,0; 9,0; в контроле исходный pH составлял 5,0 (среда без доведения pH).

После завершения процесса культивирования, биомассу гриба отделяли фильтрованием, а культуральную жидкость использовали для дальнейших исследований. В образцах определяли pH и редокс-потенциал, накопление биомассы и уровень биосинтеза глюкозооксидазы.

Установлено, что для *P. adametzii* в случае поддержания pH на уровне 5,0 и 7,0 отмечался прирост биомассы (увеличение в 1,48 (22,20 мг/мл) и 1,39 раз (20,85 мг/мл) соответственно), в то время как при pH-стагировании на уровне 9,0 наблюдалось снижение данного показателя. Накопление биомассы при стабилизации pH на уровне 3,0 отличалось от контроля незначительно.

Что касается *P. funiculosum*, значительное уменьшение показателей накопления биомассы наблюдалось только при поддержании pH на уровне 3,0. В остальных вариантах стагирования наблюдалось увеличение накопления биомассы в 1,31-1,81 раза, максимальные значения 22,4-23,5 мг/мл отмечены при поддержании pH на уровне 7,0-9,0.

Исследование исходного редокс-потенциала среды выращивания показало, что в образцах с *P. adametzii*, где pH устанавливался на уровне 7,0, значение данной величины (342 мВ) было выше, чем в контроле (310 мВ), в то время как при pH 3,0; 5,0 и 9,0 редокс-потенциал среды оказался ниже значений контроля (190-260 мВ). В случае с *P. funiculosum* в образцах, где pH устанавливался на уровне 5,0-9,0 значения редокс-потенциала (220-270 мВ) были выше контрольных показателей (200 мВ).

При исследовании редокс-потенциала в динамике установлено, что в процессе культивирования независимо от штамма-продуцента и значений поддерживаемого pH дан-

ные показатели постепенно снижались. Анализ потребления источника углерода также свидетельствует, что этот показатель не зависит от pH-стагирования.

Что касается синтеза глюкозооксидазы данными мицелиальными грибами, то незначительное увеличение уровня образования фермента (на 20 %) наблюдалось только для *P. adametzii* при стабилизации pH 9,0, вероятнее всего это происходит за счет частичного разрушения клеточных стенок и выхода внутриклеточного фермента. В остальных случаях повышения активности глюкозооксидазы отмечено не было.

Таким образом, установлено, что pH среды оказывает значительное влияние на процесс культивирования, накопление биомассы и биосинтез необходимого фермента. Ростстимулирующий эффект для *P. adametzii* наблюдался при значениях pH 5,0 и 7,0, а для *P. funiculosum* при значениях pH 7,0 и 9,0. Анализ биосинтеза глюкозооксидазы *P. adametzii* и *P. funiculosum* показал, что повышенный уровень синтеза фермента отмечен только для *P. adametzii* при поддержании pH на уровне 9,0 (увеличение биосинтеза до 20 %).

Список литературы

1. Bauer J. A., Zámocká M., Majtán J. et al. Glucose oxidase, an enzyme "Ferrari": its structure, function, production and properties in the light of various industrial and biotechnological // *Applications Biomolecules*. - 2022. - Vol. 12 (3). - P. 472. - doi: 10.3390/biom12030472.
2. Семашко Т.В., Михайлова Р.В. Некоторые аспекты применения глюкозооксидаз *Penicillium adametzii* и *Penicillium funiculosum* // Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов: сб. науч. тр. / Всероссийский науч.-исслед. ин-т пищ. Биотех. под ред. В.А.Полякова, Л.В.Римаревой. – Москва, 2016. – С. 110-121.
3. Weibel, M.K. Biochemical fuel cells / M.K. Weibel, C. Dodge // *Biochemistry and Biophysics*. – 1975. – Vol. 169, n. 1. – P. 146-151.
4. Wilson R., Turner A.P.F. Glucose oxidase: an ideal enzyme // *Biosensors and Bioelectronics*. – 1992. – Vol. 7, n. 3. – P. 165-185.
5. Wong C.M., Wong K.H., Chen X.D. Glucose oxidase: natural occurrence, function, properties and industrial applications // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2008. – Vol. 78, n. 6. – P. 927-938.
6. Rogalski J., Fiedurek J., Szczordrak J. et al. Optimization of glucose oxidase synthesis in submerged cultures of *Aspergillus niger* G-13 mutant // *Enzyme Microb. Technol.* – 1988. – Vol. 10, № 8. – P. 508-511.
7. Hatzinikolaou D.G., Macris B.J. Factors regulating production of glucose oxidase by *Aspergillus niger* // *Enzyme and Microbial Technology*. – 1995. – Vol. 17. – P. 530-534.
8. Petruccioli M., Fenice M., Piccioni P. et al. Effect of stirrer speed and buffering agents on the production of glucose oxidase and catalase by *Penicillium variable* (P16) in benchtop bioreactor // *Enzyme Microbiol. Technol.* – 1995. – Vol. 17. – P. 336-339.
9. Simpson C., Jordaan J., Gardiner N.S. et al. Isolation, purification and characterization of a novel glucose oxidase from *Penicillium* species CBS 120262 optimally active at neutral pH // *Protein Expr. Purif.* – 2007. – Vol. 51. – P. 260-266.
10. Bankar S. B., Bule M., Singhal R. S. et al. Optimization of *Aspergillus niger* fermentation for the production of

glucose oxidase // Food and Bioprocess Technology. – 2008. – Vol. 2 (4). – P. 344-352.

11. Hatzinikolaou D.G., Hansen O.C., Macris B.J. et al. A new glucose oxidase from *Aspergillus niger*: characterization

and regulation studies of enzyme and gene // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1996. – Vol. 46. – P. 371-381.

КСИЛОТРОФНЫЕ БАЗИДИОМИЦЕТЫ СРЕДНЕРУССКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ: ПОИСК АКТИВНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИИ

Шахова Н. В., Волобуев С. В.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

Ксилотрофные базидиомицеты играют ключевую роль в разложении древесины и являются важными участниками глобального углеродного цикла, поскольку они обладают уникальными внеклеточными ферментами для разложения труднодеградируемой лигноцеллюлозы (Barrasa et al., 2014). Процесс разрушения базидиомицетами стойких растительных полимеров осуществляется двумя типами внеклеточных мультиферментных комплексов: лигнинолитическим, включающим в себя окислительные ферменты, способные разрушать лигнин, и гидролитическим, состоящим из целлюлолитических ферментов, ответственных за разложение полисахаридов (Martínková et al., 2016, Mäkelä et al., 2020, Okal et al., 2020). Благодаря ферментативным механизмам детоксификации не только продуктов деградации лигноцеллюлозы, но и различных ксенобиотиков, дереворазрушающие грибы имеют широкое применение в различных областях биотехнологии (Peralta et al., 2017).

В результате экспедиционных выездов 2015–2020 гг. в чистую культуру были введены свыше 130 дикариотических штаммов 40 видов ксилотрофных афиллофоридных базидиомицетов (*Agaricomycetes*, *Basidiomycota*), полученных из образцов различного субстратного происхождения, собранных на территории заповедников в пределах Среднерусской возвышенности. Исследуемые штаммы депонированы в коллекцию культур базидиомицетов Ботанического института им. В.Л. Комарова (LE-BIN) (Санкт-Петербург, Россия). Нами проведен скрининг лигнолитических и целлюлолитических ферментов у ксилотрофных базидиомицетов, растущих на живой и мертвой древесине, с целью выбора наиболее перспективных штаммов для использования в утилизации лигнинсодержащих отходов. Выявлены особенности распределения таксонов, включающих активные продуценты ферментов лигно-целлюлолитического комплекса, в современной системе грибов. Показано, что виды грибов, с высоким лигнино- и/или целлюлолитическим потенциалом, можно разделить на две эколого-трофические группы, населяющие древесину разной степени разложения в природных условиях. Первая группа включает облигатные и факультативные патогены из семейств *Hymenochaetales* (*Inonotus hispidus*), *Meruliaceae* (*Sarcodontia setosa*), *Peniophoraceae* (*Peniophora cinerea*, *P. incarnata*, *P. quercina*) и первичные ксилосапротрофы из семейств *Gloeophyllaceae* (*Gloeophyllum trabeum*), *Polyporaceae* (*Funalia trogii*, *Trametes ochracea*), которые инициируют процесс разложения древесины упавших или сухостойных деревьев. Вторая группа состоит из представителей семейств *Irpicaceae* (*Irpex lacteus*, *Raduliporus aneirinus*), *Polyporaceae* (*Lentinus arcularius*) и *Steccherinaceae* (*Junghuhnia nitida*, *Metuloidea fragrans*,

Steccherinum bourdotii, *S. ochraceum*), которые являются вторичными ксилосапротрофами, предпочитающими мелкие фрагменты древесины (ветви, тонкие стволы и т.д.) или уже разлагающуюся древесину (Volobuev, Shakhova, 2022). Для ряда штаммов был проведен тест с полифенольным красителем – азуром Б, направленный на обнаружение грибов с высоким деградационным потенциалом, перспективных для использования в технологиях био конверсии и биоремедиации. В рамках данной работы установлено, что в группу грибов-деструкторов древесины, обладающих высоким деградационным потенциалом, входят представители семейств *Meruliaceae* (*Gloeoporus dichrous*, *Phlebia rufa*), *Polyporaceae* (*Trametes gibbosa*, *T. pubescens*), *Fomitopsidaceae* (*Fomitopsis betulina*, *Pyrenopeziza fulgens*), *Hymenochaetales* (*Inocutis rheades*, *Phellinus laevigatus*) и *Hericiaceae* (*Laxitextum bicolor*) (Shakhova, Volobuev, 2020a).

Коллекционные штаммы Среднерусской возвышенности использовались нами не только в масштабном скрининге продуцентов окислительных и целлюлолитических ферментов. Рассмотрены вопросы биологии и экологии вида *Sarcodontia setosa* – ксилотрофного базидиомицета, обладающего фитопатогенной активностью. Проведена культурально-морфологическая и молекулярно-генетическая верификация 9 дикариотических штаммов *S. setosa* (Shakhova, Volobuev, 2020b). Особое внимание было уделено получению сведений о биосинтетическом потенциале штаммов *S. setosa* при их культивировании на полусинтетических (с добавлением водных вытяжек из древесины семечковых плодовых культур) и синтетической (глюкозо-пептонной) агаризованных питательных средах различного состава. Обнаружена корреляция между способностью исследованных штаммов к продукции ферментов лигно-целлюлолитического комплекса и составом питательной среды (Volobuev, Shakhova, 2020). Для продукции *S. setosa* окислительных ферментов состав среды имел решающее значение, тогда как целлюлолитические ферменты не отличались избирательностью.

Полученные данные расширили современные представления о продуцентах лигнина и целлюлазы среди ксилотрофных базидиомицетов, распространенных как на территории Среднерусской возвышенности, так и в умеренной зоне Евразии в целом, и будут дополняться в дальнейшем.

Исследования выполнены по теме государственного задания БИН РАН №122011900033-4 «Биоразнообразие, экология и структурно-функциональные особенности грибов и грибообразных протистов», а также частично в рамках Гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (МК–3216.2019.11).

Список литературы

1. Barrasa J.M., Blanco M.N., Esteve-Raventós F. et al. Wood and humus decay strategies by white-rot basidiomycetes correlate with two different dye decolorization and enzyme secretion patterns on agar plates. *Fungal genetics and biology*. 2014. 72: 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2014.03.007>
2. Martinková L., Kotik M., Marková E., Homolka L. Biodegradation of phenolic compounds by Basidiomycota and its phenol oxidases: a review. *Chemosphere*. 2016. 149: 373–382. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.022>
3. Mäkelä M.R., Hildén K., Kowalczyk J.E., Hatakka A. Progress and research needs of plant biomass degradation by basidiomycete fungi. In: Nevalainen H. (eds) *Grand challenges in fungal biotechnology*. Grand challenges in biology and biotechnology. Springer, Cham, 2020. P. 405–438. https://doi.org/10.1007/978-3-030-29541-7_15
4. Okal E.J., Aslam M.M., Karanja J.K., Nyimbo W.J. Mini review: Advances in understanding regulation of cellulase enzyme in white-rot basidiomycetes. *Microbial Pathogenesis*. 2020. 147: art. 104410. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104410>
5. Peralta R.M., da Silva B.P., Córrea R.C.G., Kato C.G., Seixas F.A.V., Bracht A. Chapter 5 – Enzymes from basidiomycetes — Peculiar and efficient tools for biotechnology. In: Brahmachari G. (ed) *Biotechnology of microbial enzymes*. Academic Press, 2017. P. 119–149. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803725-6.00005-4>
6. Volobuev S., Shakhova N. Towards the discovery of active lignocellulolytic enzyme producers: a screening study of xylotrophic macrofungi from the Central Russian Upland. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*. 2022. 46(1): 91–100. <https://doi.org/10.1007/s40995-021-01245-7>
7. Shakhova N.V., Volobuev S.V. Revealing new active and biotechnologically perspective producers of oxidative and cellulolytic enzymes among pure cultures of xylotrophic Agaricomycetes from the Southern Non-Chernozem zone of the European part of Russia. *Current Research in Environmental and Applied Mycology*. 2020a. 10(1): 113–119. <https://doi.org/10.5943/cream/10/1/12>
8. Shakhova N.V., Volobuev S.V. Culture characteristics and enzymatic activity of *Sarcodontia crocea* (Basidiomycota) strains collected from the Central Russian Upland. *Микология и фитопатология*. 2020b. 54(6): 446–451. <https://doi.org/10.31857/S0026364820060100>
9. Volobuev S.V., Shakhova N.V. A comparative study on growth and lignocellulolytic activity of nine *Sarcodontia crocea* strains in four different media. *Разнообразие растительного мира*. 2020. 3(6): 45–54. <https://doi.org/10.22281/2686-9713-2020-3-45-54>

СВОЙСТВА БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ НА ОТХОДАХ БРОДИЛЬНОГО ПРОИЗВОДСТВА

Шонахунов Т. Э., Ахмедова З. Р., Яхяева М. А. Хамраева З. Т., Гулямова И. Т., Ибрагимов А. А.
Институт микробиологии АН РУз, Ташкент, Республика Узбекистан

В последние десятилетия большую актуальность приобретает поиск путей производства продуктов и кормов на основе ксилотрофных съедобных грибов и дешевых, легкодоступных и нетоксичных отходов растениеводства и промышленности. Сырье широко культивируемых съедобных грибов несет полноценный состав компонентов питания: протеина, пищевых волокон, липидов, минеральных элементов. Широко культивируемыми видами являются *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes*, *Volvariella volvacea* и др. (Chang, 1999; ISMS, 2017; Roysse, 2017).

Рентабельность производства съедобных грибов можно повысить, если в качестве субстрата использовать отходы крупных предприятий, имеющих многотоннажные отходы, в частности, бродильных производств. Так, производство пищевого этанола из пшеницы на четырех заводах Республики Узбекистан (ОАО “Бектемир спирт”, “Куконспирт”, “Андижон биокиме заводи”, “Янгиул биохим”) сопровождается образованием большого количества послеспиртовой барды, объем которой во много раз превышает объем производимого этанола (135–150 м³ на 1000 дал этанола). В настоящее время барда является обременительным отходом, создающим угрозу окружающей среде (Akhmedova, 1994).

В 1965 г. впервые был использован субстрат, обогащенный белком под действием гриба *Agaricus bisporus*, который предлагалось использовать в качестве корма для крупного рогатого скота, так называемый “микокорм” (Mirjam et al., 2017; Geml et al., 2008).

Исходя из вышеуказанных литературных данных и множества исследований, касающихся высших базидиальных грибов (Kerriga, 1995; Kolesnikova, Ptskialadze, 1999; Ten Have, 2001; Callac et al., 2002; Melnikova et al., 2008; Mirjam et al., 2017; Wood, 1980; Hofrichter et al., 2015) и полученных нами ранее результатов (Akhmedova, 1999; Akhmedova et al., 1994; Akhmedova et al. 1993; Akhmedova, 1995, 1996), следует отметить, что биологические, физиологические и биохимические свойства базидиальных грибов и их высокий биосинтетический потенциал позволяют считать их перспективными источниками не только в получении плодовых тел, но и для создания эффективных биотехнологий по биотрансформации и утилизации различных лигноцеллюлозных субстратов, а также в получении ценных кормовых продуктов, в том числе на отходах бродильных производств.

Целью данной работы является оценка ферментативной активности, накопления белка и аминокислотного состава при глубинном культивировании базидиальных

грибов с использованием послеспиртовой зерновой барды в качестве одного из компонентов субстрата.

Изученные штаммы базидиальных грибов проявили протеолитическую активность в обоих вариантах питательной среды. Относительно высокая протеолитическая активность обнаружена в фильтрате КЖ *Agaricus bisporius* УзБИ 12 на модифицированной среде с бардой к 96 ч роста гриба, которая составила 0.14 ед./мл.

Для проявления высокой активности ферментов и продуктивности грибов, помимо питательной среды, большое значение имеют физико-химические факторы роста, способы и условия культивирования.

Изучение активности ферментов *A. bisporius* УзБИ 2 показало, что при 30°C наблюдали наибольшее накопление белка в культуральной среде к 96 и 120 ч роста. Активность ферментов наблюдали также при 30°C, особенно к 120–144 ч роста гриба. Ксиланазная активность была выше при всех температурах и сроках роста *A. bisporius* УзБИ 2 по сравнению с целлюлазной активностью.

Аналогичную картину по накоплению белков и активности ферментов в зависимости от температуры культивирования наблюдали для *A. bisporius* УзБИ 12. Активность ферментов у этого штамма была ниже, чем у *A. bisporius* УзБИ 2.

Изучение накопления белка и активности ферментов штамма *Pleurotus ostreatus* УзБИ 108 при его культивировании при разных температурах проводили в течение 13 суток (312 ч). Наибольшее количество белка и более высокая ферментативная активность были выявлены при температурах 25–30°C. Максимальная концентрация белка (38.2 мг/мл) была зафиксирована на 10-е сутки роста. Было также показано, что ксиланазная активность у этого штамма была несколько выше, чем целлюлазная, однако в динамике роста штамма активность ферментов менялась незначительно. Максимальные значения ксиланазной активности достигали 3.7 ед./мл на 11-е сутки роста при 25°C, тогда как целлюлазная – 3.5 ед./мл на девятые сутки при 25°C. Для *P. ostreatus* УзБИ 108 отмечали накопление белка в КЖ до 240-часового роста при 25°C.

Анализ белков в гидролизатах грибов показал, что все исследованные штаммы имели полноценный аминокислотный состав. Преобладающим являлся глутамин, причем если в составе зерновой барды концентрация глутамина составляла 0.036051 мг/мл то после ферментации на данном субстрате *Agaricus bisporius* УзБИ 12 его содержание достигло 4.112774 мг/г, *A. bisporius* УзБИ 2 – 4.69535 мг/г, а *Pleurotus ostreatus* УзБИ 108 – 10.68413 мг/г. Следующим по высокому содержанию являлся цистеин: его концентрация в исходной барде составляла 0.036051 мг/г, после ферментации *Agaricus bisporius* УзБИ 12 – 1.650142 мг/г, *A. bisporius* УзБИ 2 – 2.358357 мг/г, *Pleurotus ostreatus* УзБИ 108 – 3.371105 мг/г.

Общая сумма аминокислот ферментированных грибами по сравнению с исходной бардой (1.397052 мг/г) существенно возросла: *Agaricus bisporius* УзБИ 12 – 36.04619 мг, *A. bisporius* УзБИ 2 – 22.62895 мг и *Pleurotus ostreatus* УзБИ 108 – 17.82402 мг/г.

Таким образом, нами показана возможность успешного проведения био конверсии зерновой барды с применением штаммов *P. ostreatus* УзБИ 108, *Agaricus bisporus* УзБИ 2 и *A. bisporus* УзБИ 12 и получением продуктов, обогащенных белком с полноценным аминокислотным составом, а также обладающих высокой активностью гидролитических ферментов.

Среди трех испытанных культур базидиомицетов наибольшую активность и продуктивность по ферментатив-

ной активности показал *Agaricus bisporus* УзБИ 2, по аминокислотному составу – *Pleurotus ostreatus* УзБИ 108.

Аналогичные данные были получены в работах с базидиальными грибами (Birjukov et al., 2002; Bitteeva et al., 2002). Так, был предложен запатентованный способ получения белковой биомассы путем глубинного культивирования гриба *Pleurotus pulmonarius* PP-3.2 на крахмал-аммонийной среде в условиях аэрации при pH 5.5–6.0 и 23–25°C. Авторы предлагали получать белковые пищевые добавки для использования в хлебопекарной, мясоперерабатывающей и других отраслях пищевой промышленности с целью обогащения пищевых продуктов высококачественным грибным белком, содержание которого составляло 31.2% (Patyshakuliyeva, et al. 2015). М.Б. Биттеевой с соавторами (Bitteeva, 2002) также отмечалось, что базидиомицеты могут быть использованы для получения биомассы с высоким содержанием белка, ненасыщенных жирных кислот (линолевой, линоленовой), витаминов, минеральных веществ, что может рассматриваться не только как белковая пищевая добавка, но и как комплексный источник биологически активных соединений. Получение биомассы мицелия базидиальных грибов методом глубинного культивирования на молочной сыворотке было рассмотрено в работах В.Ф. Колесниковой и Д.А. Пцкиладзе и Е.А. Мельниковой с соавторами (Morin et al. 2012). Авторы успешно применили отъемно-доливной метод культивирования и показали перспективность использования грибов для получения белкового продукта.

Оценка ферментативной активности и аминокислотного состава грибов *Pleurotus ostreatus* и *Agaricus bisporus*, выращенных на отходах броидильной промышленности, показала, что зерновая барда является полноценным субстратом для выращивания базидиомицетов с целью ее обогащения белком и дальнейшего использования, в частности, в кормопроизводстве.

Список литературы

1. Chang S.T. World production of cultivated edible and medicinal mushrooms in 1997 with emphasis on *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. in China. *Int. J. Med. Mushrooms*. 1999. V. 1. P. 291–300. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v1.i4.10>
2. Akhmedova Z.R. Cellulolytic, xylanolytic and lignolytic enzymes of the fungus *P. ostreatus*. *Appl. Biochem. Microbiol.* 1994. V. 30. P. 42–48.
3. Mirjam A., Kabel I., Jurak E. et al. Occurrence and function of enzymes for lignocellulose degradation in commercial *Agaricus bisporus* cultivation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2017. V. 101 (11). P. 433–436.
4. Kerrigan R.W. Global genetic resources for *Agaricus* breeding and cultivation. *Can. J. Bot.* 1995. V. 73. P. 973–979. <https://doi.org/10.1139/b95-347>
5. Kolesnikova V.F., Ptskialadze D.A. Method for obtaining protein biomass. Patent RU 2126835 C12P 21/00, C12N 1/14, C12N 1/14, C12R1: 645 dated 02.27.1999.
6. Ten Have R., Teunissen P.J. Oxidative mechanisms involved in lignin degradation by white-rot fungi. *Chem. Rev.* 2001. V. 101. P. 3397–3413. <https://doi.org/10.1021/cr000115l>
7. Callac P., Theochari I., Kerrigan R.W. The germplasm of *Agaricus bisporus*: main results after ten years of collecting in France, in Greece, and in North America. *Acta Hort.* 2002. V. 579. P. 49–55. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.579.4>
8. Melnikova, E.A., Mironov P.V., Litovka Yu.A. Morphological features of the basidiomycete *Pleurotus pulmonarius* in

- surface and merged culture. *Bioresour. Technol.* 2008. V. 99 (12). P. 5165–5176.
9. Wood D.A. Production, purification and properties of extracellular laccase of *Agaricus bisporus*. *J General Microbiol.* 1980. V. 117. P. 327–328.
 10. Hofrichter M., Kellner H., Pecyna M.J. et al. Fungal unspecific peroxigenases: heme-thiolate proteins that combine peroxidase and cytochrome P450 properties. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2015. V. 851. P. 341–368. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16009-2_13
 11. Akhmedova Z.R. Bioconversion of cotton waste by wood-destroying basidiomycetes. *Microbiology.* 1995. V. 64 (3). P. 381–386.
 12. Akhmedova Z.R. Ligninolytic, xylanolytic and cellulolytic enzymes of basidiomycetes and their relationship in the decomposition of lignocellulose: *Doct. Biol. Thesis abstract.* Tashkent, 1999.
 13. Akhmedova Z.R., Beletskaya O.P. Cellulases and ligninases of basidiomycetes. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya.* 1993. N 6. P. 823–828 (in Russ.).
 14. Rabinovich M.L., Melnik M.S., Bolobova A.V. Wood-destroying fungi. *Biokhimiya.* 2002. V. 67 (8). P. 1026–1050 (in Russ.).
 15. Feniksova R.V., Tiunova N.A., Rodionova N.A. et al. *Methods of modern biochemistry.* Nauka, Moscow, 1975 (in Russ.).
 16. Biryukov V.V., Bitteeva M.B., Cherkezov A.A. et al. Patent RU 2186851 C12P 21/00, C12N 1/14, C12N 1/14, C12R1:645 dated 10.08.2002 (in Russ.).
 17. Bitteeva M.B., Biryukov V.V., Cherkezov A.A. et al. Method for obtaining protein biomass of the fungus. Patent RU 2189395 C12P 21/00, C12N 1/14, C12N 1/14, C12R1: 645 dated 09.20.2002. (in Russ.).
 18. Patyshakuliyeva A., Post H., Zhou M. et al. Uncovering the abilities of *Agaricus bisporus* to degrade plant biomass throughout its life cycle. *Envir. Microbiol.* 2015. V. 17. P. 3098–3109. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12967>
 19. Morin E., Kohler A., Baker A.R. et al. Genome sequence of the button mushroom *Agaricus bisporus* reveals mechanisms governing adaptation to a humic-rich ecological niche. *PNAS USA.* 2012. V. 109. P. 17501–17506. <https://doi.org/10.1073/pnas.1206847109>

ПОЛУЧЕНИЕ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ *LENTINUS TIGRINUS* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СРЕД С НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫМИ ЧАСТИЦАМИ ДРЕВЕСИНЫ

Шутова В.В.

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск

К лигнолитическим и целлюлолитическим ферментам обращено внимание многих исследователей, поскольку они имеют большой потенциал для применения в различных сферах промышленности, включая химическую, топливную, пищевую, сельскохозяйственную, бумажную, текстильную, косметическую и др. [1], в том числе и в иммобилизованном виде [2]. Они играют решающую роль в деградации растительного сырья, а также многочисленных фенольных поллютантов и, следовательно, в биоремедиации почвенных и промышленных вод [3]. Спрос на лигнолитические ферменты грибов белой гнили в промышленности и биотехнологии постоянно увеличивается.

Базидиомицет *Lentinus (Panus) tigrinus* обладает мощным ферментативным комплексом целлюлаз и лигнолитических ферментов (лактаза, Mn-зависимая пероксидаза (MnP), секреторная пероксидаза) [4-6]. Деградация целлюлозы катализируется целлюлолитическими ферментами, важное место среди которых занимают эндоглюканызы, случайным образом расщепляющие цепи внутри полимера [7]. Синтез ферментов зависит от условий культивирования и состава питательной среды, например, природы и концентрации источников углерода, азота и некоторых металлов (меди, марганца и кальция), pH и др. [8]. Грибы белой гнили обладают лигноцеллюлазными ферментными системами, которые способны к биодеградации устойчивых ксенобиотиков и биополимеров и/или повышению эффективности биоконверсии [9].

В биотехнологии применение наноразмерных частиц (НЧ) повышает эффективность процесса за счет увеличения доступности субстрата ферментам, синтезируемым

при культивировании микроорганизмов. Было показано, что использование ультраизмельчения лигноцеллюлозного сырья, в том числе с помощью ультразвука повышает эффективность последующего ферментативного гидролиза целлюлазами для получения биоэтанола [10,11].

В связи с этим целью работы было установление взаимосвязи между размером частиц древесины (в том числе наноструктурированных) и их доступностью при культивировании гриба *Lentinus tigrinus* для синтеза ксилитических ферментов.

Для сравнения в работе использовали различные источники целлюлозы – древесина сосны и березы. Предполагалось, что лигноцеллюлазная активность гриба специфична по отношению к различным субстратам.

Оценить размеры частиц в диапазоне от 100 нм до 1 мм можно с помощью метода лазерной дифракции, методы ЛИМ позволяют измерить размеры и наночастиц [10,12]. Определение размера УДЧ проводили методом лазерной дифракции на анализаторе размеров частиц *Shimadzu SALD-3101* (рис.1 и 2).

При измерении УДЧ древесины березы обнаружены частицы диаметром от 0,25 до 360 мкм. Наиболее часто встречающиеся частицы от 30 до 51 мкм. Также обнаружены мелкие частицы диаметром 400 нм, количество каждой фракции не превышает 0,7%.

При измерении УДЧ сосны обнаружены частицы от 0,2 нм 300 мкм, но чаще встречались частицы от 60 до 100 мкм. Отметим, частицы размером порядка 400 нм встречались гораздо чаще, и количество каждой из фракций превышает 2%.

Рис.1. Размеры УДЧ березы (400 об./мин, 40 мин)

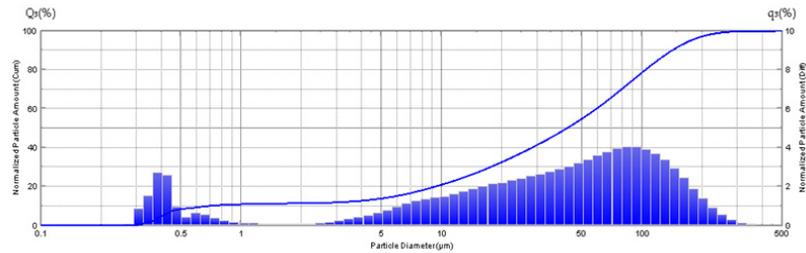
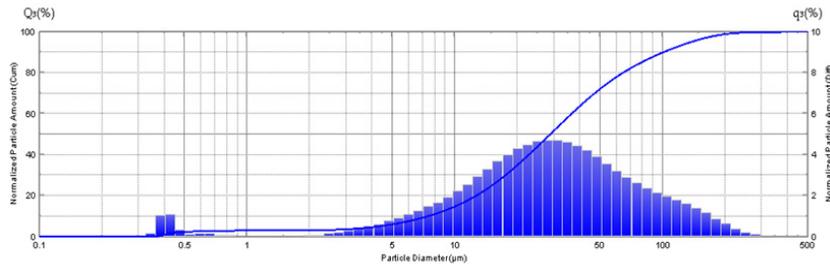


Рис. 2. Размеры УДЧ сосны (400 об./мин, 40 мин)



Результаты измерения размеров частиц древесины показали, что увеличение времени измельчения приводит к их снижению [13]. *L. tigrinus* выращивали в среде с лигносульфонатом и грубодисперсными опилками и механоактивированными частицами березы и сосны (5 % от объема среды).

Установлено, что накопление внеклеточного белка штаммом осуществляется до 6 суток: максимальные концентрации экстраклеточного белка в КЖ выявлены при культивировании гриба на сосновых опилках и УДЧ березы, а меньше внеклеточного белка образовалось в среде с УДЧ сосны.

Лакказы – медьсодержащая фенолоксидаза [14]. При исследовании действия лигноцеллюлозного субстрата на лакказную активность *L. tigrinus* установлено, что она проявлялась на 2 сутки культивирования, максимум наблюдался к 4-6 суткам (рис.3). Максимальное значение активности наблюдается на среде УДЧ березы, активность гриба на 4

сутки достигла 78,2 ед/мл и не изменялась до 8 суток культивирования. У другого штамма этого гриба активность была выше на 10 % [13]. *L. tigrinus* на всех остальных видах субстратов достигает максимума активности к 6 суткам роста. Минимальное значение активности показал гриб, выращенный на сосне. Удельная активность лакказы *L. tigrinus* была выше при выращивании на УДЧ березы (528.4 ед./мг белка), достигала максимального значения на 4 сутки.

Пероксидазная активность *L. tigrinus* фиксировалась уже на 2 сутки. Максимальная активность обнаружена при культивировании штамма на УДЧ березы на 6 сутки (10,6 ед/мл) (рис.4). Активность фермента на опилках сосны с различным измельчением на 6 сутки роста была ниже, чем на опилках березе. Активность была выше при культивировании *L. tigrinus* на НЧ древесины. Максимальный показатель удельной активности пероксидазы наблюдается при культивировании гриба на УДЧ березы и на 4 сутки роста составляет 61,2 ед./мг белка.

Рис.3. Лакказная активность

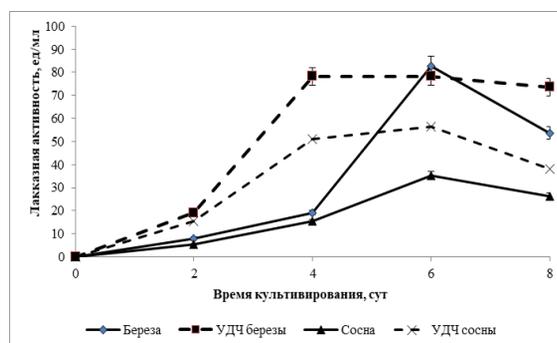
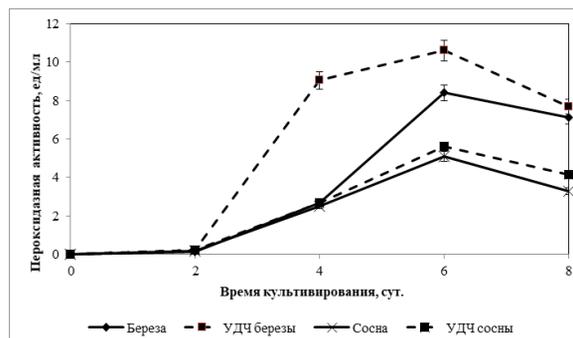


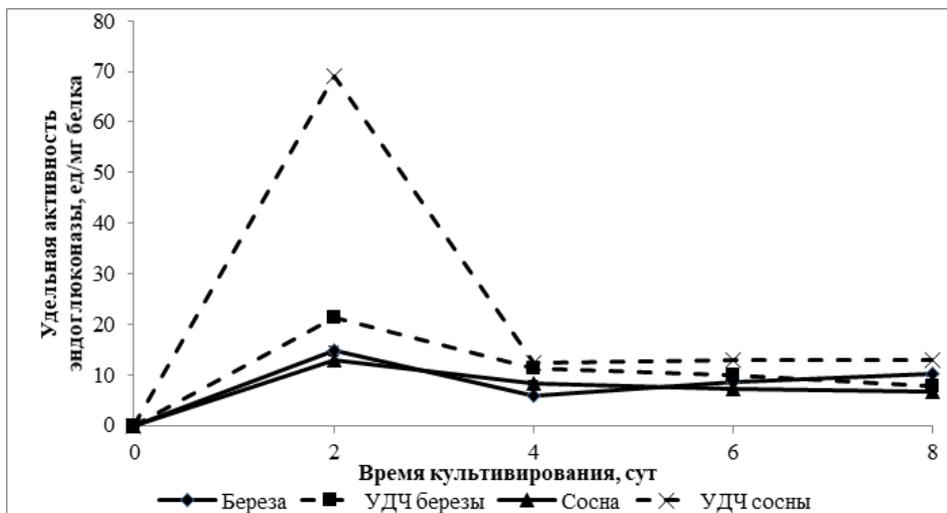
Рис.4. Пероксидазная активность



Другим внеклеточным ферментом гриба является МнП [15]. К 6 суткам культивирования МнП активность на всех видах субстрата достигает максимума. На протяжении всего времени роста гриба на УДЧ березы выявлены высокие значения МнП активности. Известно, что МнП эффективнее модифицирует лигнин хвойных по сравнению с лиственными породами древесины [28]. Удельная МнП активность во всех вариантах достигала максимума раньше (2 сутки).

При культивировании гриба эндоглюкозная активность в средах с УДЧ была выше, чем на грубоизмельченных субстратах. Эндоглюкозная активность гриба на УДЧ сосны была практически такой же, как и на УДЧ березы. Максимальная удельная активность эндоглюкоказы штамма наблюдалась к 4 суткам (на 2 суток раньше, чем общая) (рис. 5). У гриба, растущего на УДЧ сосны, величина удельной активности была самой высокой (69,2 ед./мг белка). Таким образом, и значение активности, и биосинтез фермента были больше при культивировании на НЧ.

Рис.5. Удельная эндоглюкозная активность



При культивировании гриба *L.tigrinus* на грубоизмельченных и УДЧ показано, что максимальная лигнолитическая активность наблюдалась на субстрате с УДЧ березы, т.к. данный гриб предпочитает лиственные породы деревьев. Целлюлолитическая активность была выше на НЧ обеих пород древесины. Максимальная лигнолитическая активность культуры гриба *L. tigrinus* наблюдалась на 6 сутки роста на УДЧ березы.

Использование ультрадисперсных субстратов способствует разрушению клеточных оболочек, снижению кристалличности целлюлозы и увеличению доступной для ферментов поверхности, что способствует повышению скорости ферментативного гидролиза.

Исходя из полученных данных, можно утверждать, что УДЧ являются перспективнейшими субстратами для био-конверсии древесины базидиомицетами, а также индукторами при получении лигнолитических и целлюлолитических ферментов базидиомицетов.

Список литературы

1. Maciel MJM, Ribeiro HCT. Industrial and biotechnological applications of ligninolytic enzymes of the basidiomycota: A Review. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2010; 13(6): 14-15.
2. Bilal M, Asgher M, Parra-Saldivar R et al. Immobilized ligninolytic enzymes: an innovative and environmental responsive technology to tackle dye-based industrial pollutants—a review. *Science of the Total Environment*. 2017; 576: 646-59.
3. Baldrian P, Šnajdr J. Production of ligninolytic enzymes by litterdecomposing fungi and their ability to decolorize synthetic dyes. *Enzyme Microb Technol*. 2006; 39: 1023-9.
4. Шутова В.В., Ревин В.В., Мякушина Ю.А. Влияние ионов меди на продукцию лакказы грибом *Lentinus (Panus) tigrinus*// Прикл. биохим. микробиол. 2008. 44(6): 683-7.

5. Кадималиев Д.А., Шутова В.В., Телятник В.И., Ревин В.В., Кезина Е.В., Кудяева Т.В. Исследование взаимосвязи между лигнолитической и фосфолипидной активностями гриба *Lentinus tigrinus* // Микробиология. 2014. Т.83, №4: 426–35.
6. Ревин В.В., Шутова В.В., Лияськина Е.В., Ибрагимова С.А., Самуилов В.Д. Морфологическая и физиолого-биохимическая характеристика базидиомицета *Panus tigrinus* // Микология и фитопатология. 2003. Т. 37, № 4: 72–78.
7. Baldrian P, Valášková V. Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. FEMS microbiol rev. 2008; V. 32, №3: 501–21.
8. Шутова В.В. Целлюлолитическая активность *Lentinus tigrinus* и *Pleurotus ostreatus* в средах с пшеничной соломой. Успехи медицинской микологии. 2018. Т. 19: 229–32.
9. Pozdnyakova NN, Jarosz-Wilkolazka A, Polak J, Grąz M, Turkovskaya OV. Decolourisation of anthraquinone- and anthracene-type dyes by versatile peroxidases from *Bjerkandera fumosa* and *Pleurotus ostreatus* D1. Biocatalysis and Biotransformation. 2015; 33(2): 69–80.
10. Шутова В.В., Юсипович А.И., Паршина Е.Ю., Захаркин Д.О., Ревин В.В. Эффективность ферментативного гидролиза полисахаридов ультрадисперсных частиц лигноцеллюлозного сырья в зависимости от их размера. Прикл. биохим. микробиол. 2012. 48(3): 346–52.
11. Revin VV, Atykyan NA, Zakharkin DO, Shutova VV, Yazykova M. Study of the effect of wood ultrafine particles size on their enzymatic hydrolysis efficiency. Journal of Biotechnology. 2014; 185: S123–S124.
12. Юсипович А.И., Берестовская Ю.Ю., Шутова В.В. и соавт. Новые возможности исследования микробиологических объектов методом лазерной интерференционной микроскопии. Биофизика. 2011; 56(6): 1091–8.
13. Шутова В.В., Ревин В.В. Наноструктурированные частицы древесины – перспективный субстрат для продуцирования лигноцеллюлолитических ферментов дереворазрушающим грибом *Lentinus tigrinus*. Российские нанотехнологии. 2020; 15(1): 76–85.
14. Mate D.M., Alcalde M. Laccase: a multi-purpose biocatalyst at the forefront of biotechnology. Microbial biotechnology. 2017. V.10, №. 6: 1457–67.
15. MacDonald J, Goacher RE, Abou-Zaid M, Master ER. Comparative analysis of lignin peroxidase and manganese peroxidase activity on coniferous and deciduous wood using ToF-SIMS. Appl microbiol biotechnol. 2016; 100(18): 8013–20.

МУЛЬТИКОНВЕРСИОННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЖИДКОФАЗНЫХ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БИОПЕСТИЦИДОВ

Титова Ю. А.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Пушкин, Санкт-Петербург

Отходы техногенной сферы и сельского хозяйства используются в производстве съедобных грибов [1, 2]. При их росте на малоценных растительных отходах происходит обогащение последних грибным белком, легко усваиваемыми компонентами и биологически активными веществами, которые результате биоконверсии входят в состав ферментных комплексов мицелия, пронизывающего всю толщу субстрата [3, 4]. Такой обогащенный субстрат после сбора плодовых тел – дешевый и ценный биотехнологический продукт для последующих ступеней его биоконверсии [5, 6]. Разработка технологии получения полифункциональных биопрепаратов состоит из ряда этапов, наиболее важным из которых является подбор и оптимизация питательных субстратов [7, 8]. Последние должны содержать дешевые и доступные источники питания, необходимый набор микроэлементов для обеспечения быстрого развития штаммов-продуцентов, а также не должны отрицательно влиять на их биологическую активность, обеспечивая полифункциональность [9–12]. Поскольку основа полифункциональных биопрепаратов – живые культуры микроорганизмов и продукты их метаболизма (токсины, ферменты и др.) существуют различные подходы к культивированию штаммов-продуцентов [13, 14]. Жидкофазную ферментацию используют для получения бактериальных, комплексных и биопрепаратов на основе микромицетов [15].

Исходя из вышесказанного, цель исследования в разработке новой технологии получения полифункциональных биопрепаратов с использованием водных экстрактов мультибиоконвертированных агропромышленных отходов. Для достижения цели решали следующие задачи: раз-

работать новые питательные среды для развития штаммов-продуцентов с использованием водных экстрактов мультибиоконвертированных отходов техногенной сферы и сельского хозяйства съедобными макромицетами; оценить эффективность использования водных экстрактов штаммами-продуцентами *Bacillus subtilis* и микромицетов; получить опытные лабораторные образцы жидких мультиконверсионных полифункциональных биопрепаратов (ЛО МПБ, Ж) и оценить их качество.

Работу проводили на базе лаборатории микробиологической защиты растений Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений (ВИЗР). Материалами исследований были субстраты для промышленного культивирования съедобных макромицетов *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (*шiiu-take*) и *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (вешенки) на основе отходов техногенной сферы и сельского хозяйства, блоки с развивающимся мицелием (CSLe) *L. edodes* 4080 и (CSPo) *P. ostreatus* HK-35 (Sylvan, Inc.), а также отработанные в процессе жизнедеятельности последних отходы (SMSLe, SMSPo). Кроме того, материалами служили мультиконверсионные субстраты, полученные после последовательной бикультуры шiiu-take и вешенки: SMSLePo. Используемые для мультибиоконверсии субстраты в интактном и отработанном состояниях имели следующий процентный состав, рассчитанный по весу 70 %-ной влажности субстрата. CSPo: лузга гречихи и подсолнечника (1:1), опилки смешанные – 7 %, CaCO₃ – 0.1 %, CaSO₄×2H₂O – 1 %; CSLe: опилки дубовые, отруби пшеничные – 10 %, CaCO₃ – 0.1 %, CaSO₄×2H₂O – 1 %; SMSPo: ферментированный CSPo, содержащий мицелий *P. ostreatus*

НК-35; SMSLe: ферментированный CSLe, содержащий мицелий *L. edodes* 4080; SMSLePo: ферментированный SMSLe, содержащий мицелий *L. edodes* 4080 и *P. ostreatus* НК-35. Материалы для наработки опытных партий ЛО МПБ, Ж – водные экстракты SMSLe, SMSPo и SMSLePo. Субстрат предварительно измельчали и кипятили в течение 1 час в объеме 200 г/л, фильтровали, восстанавливали до исходного объема. Режим стерилизации – 30 мин. при 0.5–0.8 атм [16]. Объектами исследований были штаммы-продуценты полифункциональных биопрепаратов различного спектра действия, депонированные и поддерживаемые в Государственной коллекции микроорганизмов, патогенных для растений и их вредителей ВИЗР. Коллекция зарегистрирована 28.01.1998 № 760 в World Federation for Culture Collections, World Data Centre for Microorganisms (WFCC WDCM, Japan): *Bacillus subtilis* (Ehren.) Cohn B-10, M-22, 5И 12/23; *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf. et Nirenberg T-32, T-36, T-37, *Beauveria bassiana* (Bals. -Criv.) Vuill. 10K-4; *B. pseudobassiana* S.A. Rehner et R.A. Humber BCu22; *Brachycladium papaveris* (Sawada) Shoemaker et Inderb. 1.39, 1.39-8; *Fusarium culmorum* var. *culmorum* (W.G. Sm.) Sacc. K-4, K-4-7. Жидкофазный инокулюм и ЛО МПБ, Ж на основе штаммов-продуцентов из числа микромицетов получали культивированием в водных экстрактах различных SMS при 24–26° С в течение 5 сут с аэрацией (250 об/мин, шейкер-инкубатор New Brunswick™ Innova® 44, Eppendorf, Германия). Жидкофазный инокулюм и ЛО МПБ, Ж на основе бактериальных штаммов-продуцентов выращивали при 27–28° С в течение 3 сут с аэрацией (150 об/мин, шейкер-инкубатор New Brunswick™ Innova® 44, Eppendorf, Германия). В работе использовали следующие методы исследований: культивирования и создания инокулюма, определения споропродуктивности (титра), оценки качества ЛО биопрепаратов, оценки жизнеспособности штаммов-продуцентов по сохранению титра и целевой активности в условиях хранения [16].

На водных экстрактах мультиконвертированных съедобными макромицетами отходах развивались все исследованные 12 штаммов-продуцентов полифункциональных биопрепаратов с близкими к промышленным образцам титрами [17]. Титры ЛО МПБ, Ж (колониеобразующих единиц – КОЕ/мл) на водных экстрактах SMSLe, SMSPo, SMSLePo и их целевая биологическая активность составили соответственно: *B. subtilis* B-10 – 5.2×10¹¹, 6.5×10¹¹, 3.2×10¹², 72–85 %; M-22 – 1.5×10¹², 5.1×10¹², 1.2×10¹², 80–84 %; 5И 12/23 – 2.1×10¹¹, 1.1×10¹², 1.8×10¹², 50–62 %; *T. asperellum* T-32 – 2.1×10¹⁰, 3.3×10¹⁰, 2.2×10¹⁰, 65–72 %; T-36 – 2.7×10¹⁰, 3.1×10¹⁰, 2.5×10¹¹, 75–80 %; T-37 – 3.7×10¹⁰, 2.9×10¹², 1.2×10¹², 40–55 %; *B. bassiana* 10K-4 – 1×10⁹, 1.2×10⁹, 1.1×10⁹, 50–53 %; *B. pseudobassiana* BCu22 – 2.3×10⁹, 2.9×10⁹, 1.1×10⁹, 60–65 %; *B. papaveris* 1.39 – 1.9×10⁶, 1.8×10⁷, 1.2×10⁷, 70–72 %; 1.39-8 – 1.5×10⁶, 1.9×10⁷, 2.9×10⁷, 74–78 %; *F. culmorum* var. *culmorum* K-4 – 2.2×10⁹, 2.3×10⁹, 1.1×10⁹, 60–62 %; K-4-7 – 4.2×10⁸, 1.1×10⁹, 1.1×10⁹, 70–74 %. Штаммы-продуценты ЛО МПБ, Ж лучше всего развивались на водных экстрактах SMSPo и SMSLePo. При развитии на новых жидких питательных средах штаммы-продуценты сохраняли свою биологическую активность. Качество опытных ЛО МПБ, Ж и целевая биологическая активность их штаммов-продуцентов не уступали промышленным аналогам [17]. Хранение ЛО МПБ, Ж в условиях промышленной холодильной камеры при 6–8° С в течение 4-х мес привело к сокращению титров в 8–10 и 2 раза в случае бактерий и микромицетов из числа штаммов-продуцентов соответственно. На основании полученных результатов разработана методология полу-

чения МПБ, Ж и научно-технологическая документация (НТД). Проведена научно-производственная апробация в полевых условиях Опытной станции «Института агроинженерных и экологических проблем сельскохозяйственного производства» филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный агроинженерный центр Всероссийского института механизации» (ИАЭП-филиале ФГБНУ ФНАЦ ВИМ) 2-х новых МПБ, Ж в системе защиты органического картофеля в рамках Грантового контракта 1905165–KS1798 «Экологически дружественное умное органическое сельское хозяйство».

Список литературы

1. Sánchez, C., 2010. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85(7), 1321–1337. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2343-7>.
2. Ashrafi, R., Mian, M.H., Rahman, M.M., Jahiruddin, M., 2014. Recycling of spent mushroom substrate for the production of Oyster mushroom. *Res. in Biotechnol.* 5(2), 13–21.
3. Owaid, M.N., Abed, I.A., Al-Saeedi, S.S., 2017. Applicable properties of the bio-fertilizer spent mushroom substrate in organic systems as a byproduct from the cultivation of *Pleurotus* spp. *Inf. Process Agric.* <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2017.01.001>.
4. Hanafi, F.H.M., Rezaia, S., Taib, S.M., Din, M.F.M., Yamauchi, M., Sakamoto, M. et al. 2018. Environmentally sustainable applications of agro-based spent mushroom substrate (SMS): an overview. *J. Mater. Cycles Waste Manag.* <https://doi.org/10.1007/s10163-018-0739-0>.
5. Jasinska, A., 2018. Spent mushroom compost (SMC) – retrieved added value product closing loop in agricultural production. *Acta Agrar. Debr.* 150, 185–202. <https://doi.org/10.34101/actaagrar/150/1715>.
6. Luo, Z., Sun, Y., Zhou, X., Baig, S.A., Hu, B., Xu, X., 2017. Composition variability of spent mushroom substrates during continuous cultivation, composting process and their effects on mineral nitrogen transformation in soil. *Geoderma.* 307, 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.07.033>.
7. Glick, B.R., Gamalaro, E., 2021. Recent developments in the study of plant microbiomes. *Microorganisms* 9, 1533. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071533>.
8. Zhang, J., Cook, J., Nearing, J.T., Zhang, J., Raudonis, R., Glick, B.R. et al. 2021. Harnessing the plant microbiome to promote the growth of agricultural crops. *Microbiol. Res.* 245, 126690, pp 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126690>.
9. Anwer M.D.A., 2017. Status of biopesticides and biocontrol agents in agriculture: an overview, in: Anwer, M.D.A. (Ed.), *Biopesticides and Bioagents: Novel Tools for Pest Management*. Apple Academic Press Inc., pp.12–26. <https://doi.org/10.1201/9781315365558>.
10. Chakraborty, T., Akhtar, N., 2021. Biofertilizers: Prospects and challenges for future. *Biofertilizers* 575–590. <https://doi.org/10.1002/9781119724995.ch20>.
11. Pavlyusin, V.A.; Novikova, I.I.; Boikova, I.V. 2020. Microbiological control in phytosanitary optimization technologies for agroecosystems: research and practice (review). *Agric. Biol.* 55, 421–438. <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2020.3.421eng>.
12. Kumar, S.; Diksha; Sindhu, S.S.; Kumar, R. 2022. Biofertilizers: An ecofriendly technology for nutrient recycling and environmental sustainability. *Current*

- Research in Microbial Sciences, 3, 1–26. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100094>.
13. Fasusi, O.A., Cruz, C., Babalola, O.O., 2021. Agricultural sustainability: Microbial biofertilizers in rhizosphere management. *Agriculture* 11, 163. <https://doi.org/10.3390/agriculture11020163>.
 14. De los Santos-Villalobos S., Parra-Cota F.I. 2022. Current trends in plant growth-promoting microorganisms research for sustainable food security. *Current Research in Microbial Sciences* 2. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2020.100016>.
 15. Singh, S., Kumar, V., Dhanjal, D.S., Dhaka, S.V., Thotapalli, S., Singh, J. et al. 2021. Rhizosphere biology: A key to agricultural sustainability. In: Yadav, A.N., Singh, J., Singh, C., Yadav, N., (Eds.), *Current Trends in Microbial Biotechnology for Sustainable Agriculture. Environmental and microbial biotechnology*. Springer Nature, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6949-4_7.
 16. Методы экспериментальной микологии: Справочник. Под ред. В. Н. Билай. Киев: Наук. думка. 1982. 550 с.
 17. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. М. 2022. 903 с.

ГРИБНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ РОСТОСТИМУЛЯТОРОВ ПШЕНИЦЫ

Цивилева О.М.¹, Шатерников А.Н.¹, Евсеева Н.В.¹, Денисова А.Ю.², Ткаченко О.В.²

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН)

²ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»

Регуляторы роста растений, или биостимуляторы – средства, способствующие улучшению развития и повышению урожайности растений за счет изменения метаболических процессов, усиления адаптационных свойств растительного организма к неблагоприятным факторам внешней среды [1, 2]. Основой синтетических и природных ростостимуляторов могут быть химические соединения и продукты жизнедеятельности различных организмов соответственно [3, 4]. При этом метаболиты высших грибов-базидиомицетов как продуцентов разнообразных биологически активных веществ могли бы составить значительную часть природных регуляторов роста растений. Однако потенциально значительный вклад исследования макромицетов в расширение спектра и повышение эффективности использования фитостимуляторов не соответствует состоянию изученности вопроса. Данные о биостимуляторах на основе ксилотрофных базидиомицетов в литературе практически отсутствуют. В настоящей работе проведена оценка влияния препаратов, полученных на основе внеклеточных метаболитов съедобных и/или лекарственных высших грибов - базидиомицетов, на проростки пшеницы. Целью настоящей работы был скрининг биопрепаратов, полученных на основе погруженных культур базидиомицетов, на предмет выявления положительного действия на физиолого-морфологические показатели проростков пшеницы сорта Саратовская 29 с оценками эффекта различных концентраций селена в составе изучаемых биопрепаратов.

Исследование ответных реакций растений на действие внеклеточных грибных метаболитов проводили на системах «биопрепарат-пшеница». В качестве изучаемого растения был взят один из самых распространенных сортов сильной яровой пшеницы на Юго-Востоке – Саратовская 29 (*Triticum aestivum lutescens* L.). Семена пшеницы тщательно промывали в соответствии с общепринятыми процедурами, оставляли для набухания, затем проращивали в стерильной дистиллированной воде. Кюветы с семенами оставляли в термостате (25°С) на 2 суток, затем воду в них заменяли на водный раствор грибного препарата или на новые порции дистиллированной воды (контроль). Этилированные трехсуточные проростки пшеницы помещали в оранжерею (24оС, влажность воздуха – 60 %, освещен-

ность – 60 мкМ/м²/с) и выращивали в течение семи суток в водном растворе грибного препарата. Контролем в эксперименте служили необработанные растения, выращенные в водной культуре. Морфометрические показатели растений анализировали по завершении опыта. Каждый вариант опыта проводили на 65 - 72 растениях, из которых случайным образом отбирали 15 для оценки следующих показателей проростков пшеницы: средняя длина корня, длина coleoptily, длина листа и количество корней одного проростка, масса побега и корней. Данные, полученные в результате всех проводимых экспериментов, обрабатывали методом однофакторного и двухфакторного дисперсионного анализа со сравнением частных средних по тесту Дункана с использованием пакета программ статистического биометрико-генетического анализа AGROS,-версия 2.10 [5]. В данной работе представлены результаты трех экспериментов, проведенных в 2018-2021 гг.

Активно развивающиеся биотехнологии получения новых наноматериалов предполагают актуальность исследования потенциала высших лекарственных грибов для биосинтеза наноструктурированных композитов как антимикробных средств, лечебных препаратов, препаратов сельскохозяйственного назначения [6]. Конъюгаты с биополимерами грибов способны представлять экологически безопасный и экономически эффективный вариант использования соединений микроэлемента селена (Se) в практике культивирования и защиты растений [7]. Скрининг проводили на 52-х образцах препаратов грибного происхождения, полученных на основе погруженных культур макромицетов - представителей 7 родов, 13 видов, 21 штамма. Использовали также полученные и охарактеризованные нами ранее препараты, Se-биокомпозиты грибного происхождения, содержащие микроэлемент селен в следующих концентрациях: 5-10–6, 5-10–5, 5-10–4 моль/л. После нескольких этапов скрининга были отобраны 13 наиболее эффективных фитостимулирующих препаратов. В ответ на обработку ими проростков пшеницы способом, описанным выше, имело место увеличение длины листа во всех случаях, от 1,34 до 1,56 раза, а также некоторое увеличение длины coleoptily – от 1,06 до 1,10 раза в сравнении с водными культурами растений. Однако при этом

не отмечалось положительных изменений средней длины корня, масса побега и корней повышалась незначительно. Для проведения следующего этапа эксперимента использовали грибные препараты при их более низкой конечной концентрации в среде выращивания проростков пшеницы, от 1·10⁻⁵ до 1·10⁻⁷ моль/л по селену.

Анализ экспериментальных данных по влиянию препаратов грибного происхождения на проростки пшеницы позволил констатировать, что ответная реакция растений пшеницы, проявляющаяся в положительных изменениях морфологических параметров растения, наиболее выражена в случае воздействия препаратов на основе *Ganoderma colossus* SIE1301, *Ganoderma neojaponicum* SIEbidoup, *Grifola umbellata* 1622, *Pleurotus ostreatus* 69, в особенности в случае воздействия селеносодержащих препаратов на основе перечисленных макромицетов при микромолярной концентрации селена в среде выращивания пшеницы. Полученные результаты дают основание оценивать ряд Se-содержащих биопрепаратов из высших грибов в качестве средства, стимулирующего рост и развитие пшеницы.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (№ 22-24-00415).

Список литературы

1. Nephali L., Piater L.A., Dubery I.A., Patterson V., Huysen J., Burgess K., Tugizimana F. Biostimulants for plant growth and mitigation of abiotic stresses: A metabolomics perspective // *Metabolites*. 2020. Vol. 10, № 12. Article 505. doi: 10.3390/metabo10120505
2. Rakkammal K., Maharajan T., Ceasar S.A., Ramesh M. Biostimulants and their role in improving plant growth under drought and salinity // *Cereal Research Communications*. 2022. Vol. 50, № 2. 14 pp. doi: 10.1007/s42976-022-00299-6
3. Righini H., Francioso O., Martel Quintana A., Roberti R. Cyanobacteria: a natural source for controlling agricultural plant diseases caused by fungi and oomycetes and improving plant growth // *Horticulturae*. 2022. Vol. 8, № 1. Article 58. doi: 10.3390/horticulturae8010058
4. Ashokhan S., Othman R., Abd Rahim M.H., Karsani S.A., Yaacob J.S. Effect of plant growth regulators on coloured callus formation and accumulation of azadirachtin, an essential biopesticide in *Azadirachta indica* // *Plants*. 2020. Vol. 9, № 3. Article 352. doi: 10.3390/plants9030352
5. Tkachenko O.V., Evseeva N.V., Boikova N.V., Matora L.Y., Burygin G.L., Lobachev Y.V., Shchyogolev S.Y. Improved potato microclonal reproduction with the plant growth-promoting rhizobacteria *Azospirillum* // *Agronomy for Sustainable Development*. 2015. Vol. 35, № 3. P. 1167-1174. doi: 10.1007/s13593-015-0304-3
6. Tsvileva O.M., Perfileva A.I., Pavlova A.G. The effect of metal-containing biocomposites of fungal origin on potato plants in vitro // *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2020. Vol. 10, № 3: P. 412-423. doi: 10.21285/2227-2925-2020-10-3-412-423
7. Tsvileva O.M., Perfileva A.I. Mushroom-derived novel selenium nanocomposites' effects on potato plant growth and tuber germination // *Molecules*. 2022. Vol. 27, № 14. Article 4438. doi: 10.3390/molecules27144438

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ПОЧВЕННОГО ГРИБА *CLONOSTACHYS ROSEA* F. *CATENULATA* V1349 С ДАЛЬНЕЙШИМ ПРАКТИЧЕСКИМ ПРИМЕНЕНИЕМ В КАЧЕСТВЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

¹ Варфоломеева Е.А., Бочкова В.Б.

¹ Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург

Введение

В настоящее время в связи с большим загрязнением почв пестицидами, агрохимикатами, токсинами промышленного происхождения, актуальным становится увеличение объема применения экологически чистых биопрепаратов для защиты растений (Доспехов, 1985; Жученко, 2004). Важным этапом в этом процессе является проведение испытания новых микробиологических препаратов, определение их биологической эффективности с целью введения их в существующие системы защиты. Это позволит уменьшить кратность химических обработок, воздействие пестицидов на агробиоценоз, снизить затраты на произведенную продукцию и улучшить экологическую обстановку (Биктирова, 2004).

Особое положение в получении полифункциональных биофунгицидов занимают штаммы р. *Gliocladium*. Они обладают высокой антагонистической (за счет выработки глиотоксина, виридина, глиовирина, а также различные энзимы, такие как экзо и эндо β-1-2 глюконаза, целлюбиаза, хитиназа) и гиперпаразитической активностью в отноше-

нии болезней, возбудители которых локализируются в почве, повышают болезнеустойчивость растений, обладают ростостимулирующей активностью, за счет выделяемого в процессе жизнедеятельности – этилена.

Авторами данной статьи был выделен изолят данной *Clonostachys rosea* f. *catenulata* V1349 в естественных условиях из-под корней хлопчатника в полях Узбекистана, Сырдарьинской области. Изолят прошел стадию идентификации и депонирования во Всероссийской Коллекции Промышленных Микроорганизмов в феврале 2022г.

Целью данной работы было выделение и изучение почвенного гриба *Clonostachys rosea* f. *catenulata* V1349, а также его практическое применение в качестве штамма-продукента биопрепарата для защиты растений от почвенных фитопатогенов.

Методы исследований.

Для оценки антагонистической активности штаммов-продукентов на тест-объектах в лабораторных опытах “in vitro” использовали метод совместной культуры на

агаризованных питательных средах (Рудаков, 1981; Титова, 2000; Егоров, 2004). В качестве возбудителей заболеваний сельскохозяйственных культур использовали 7 изолятов фитопатогенных микромицетов.

Таблица 1. Виды и штаммы фитопатогенных микромицетов, использованные в работе

№ штамма/изолята	Вид микромицета	Питающее растение
1014	<i>Fusarium solani</i>	Горох (<i>Pisum</i>), томат (<i>Solanum lycopersicum</i>), перец (<i>Piper</i>), огурец (<i>Cucumis sativus</i>)
874	<i>F. graminearum</i>	Ячмень (<i>Hordeum</i>)
1102	<i>F. oxysporum</i>	Томат (<i>Solanum lycopersicum</i>), огурец (<i>Cucumis sativus</i>), перец (<i>Piper</i>)
MF-R-22.16	<i>Alternaria solani</i>	Ярутка полевая (<i>Thlaspi arvense</i>), соя (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.
0915-010	<i>Rhizoctonia solani</i>	Картофель (<i>Solanum tuberosum</i>)
VB-9	<i>Botrytis cinerea</i>	Бальзамин (<i>Impatiens</i>)
MF-R-22.16	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Ярутка полевая (<i>Thlaspi arvense</i>), соя (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.

Для совместной культуры использовали синтетический агар Чапека. Культивирование производили при оптимальной для роста и развития микромицетов температуре 24–26° С в условиях термостата. Вносили взаимодействующие культуры уколом в центр половины чашки Петри. Повторность опытов трехкратная.

Методы оценки антагонистической активности штаммов-продуцентов

Регистрация данных опытов производилась в течение 30 суток при образовании зоны контакта. Характеристика типов взаимоотношений изучаемых микромицетов производилась нами в соответствии с классификацией взаимодействия мицелия, разработанной Ю. А. Титовой (2000) на основе качественных параметров взаимодействий мицелиев: наличие границы между колониями; зона нарастания поверх культуры антагониста или фитопатогена; переплетение гиф с образованием и без такового мицелиального валика различной структуры, текстуры, размера и плотности; пигментация зоны контакта; наличие зоны отталкивания или барража; ускорение, замедление или остановка роста колонии.

I. Сосуществование (индифферентная реакция) – характеризуется относительно одинаковым ростом мицелия, без каких-либо признаков подавления одного организма другим, или продуктами его жизнедеятельности. Граница между колониями выражена, гифы переплетаются безразлично друг к другу.

I.1. Сосуществование с некоторым преобладающим развитием одного из участников взаимодействия с более высокой скоростью роста.

I.2. Сосуществование без преобладания роста одного из участников – относительно одинаковый характер развития двух участников взаимодействия.

II. Антагонизм – характеризуется замедлением или прекращением роста одного из участников взаимодействия, или его полным подавлением и гибелью, невозможностью

распространения одного организма на площадь субстрата, занятую антагонистом.

II.1. Одностороннее ингибирование – подавление одного участника взаимодействия другим.

II.1a. Слабое одностороннее ингибирование – замедление роста одного из участников взаимодействия без зоны отталкивания, образование широкого, рыхлого мицелиального валика в зоне контакта, невозможность распространения на площадь субстрата, занятую антагонистом. Граница между колониями четко выражена.

II.1б. Сильное одностороннее ингибирование – значительное подавление одного из участников взаимодействия с образованием зоны отталкивания, или наоборот – образование узкого, высокого и плотного мицелиального валика в зоне контакта, невозможность распространения на площадь субстрата, занятую антагонистом из-за подавленного состояния и отсутствия возможностей дальнейшего роста. Граница между колониями очень четко выражена.

II.2. Двустороннее ингибирование – обоюдное угнетение участников взаимодействия.

II.2a. Слабое двустороннее ингибирование. (Описание соответствует пункту II.1a).

II.2б. Сильное двустороннее ингибирование. (Описание соответствует пункту II.1б).

II.3. Паразитизм – ингибирование до полного подавления и гибели одного из участников взаимодействия и развитие другого на площади субстрата и на талломе подавленного организма. Граница между колониями четко не выражена, или отсутствует.

II.3a. Неполный паразитизм – значительное подавление одного из участников взаимодействия без полной остановки роста и развития. Жизнедеятельность одного из участников на площади субстрата и на плотном, узком и прижатом к субстрату мицелиальном валике зоны контакта, значительно сдерживающем дальнейшее продвижение подавляющего организма на таллом подавляемого участ-

ника взаимодействия. Иногда, образование зоны барража на месте мицелиального валика в зоне контакта.

II.36. Полный паразитизм – гибель одного из участников взаимодействия и развитие другого на площади субстрата и на талломе подавленного организма. Часто образование широкой зоны барража, охватывающей до всей площади подавленной колонии.

III. Стимуляция – характеризуется усилением роста и развития одного и участников под влиянием другого, или взаимным усилением роста и развития.

III.1. Односторонняя стимуляция.

III.2. Двусторонняя стимуляция.

Количественные характеристики:

- величина зоны нарастания антагониста или фитопатогена (в динамике: скорость изменения зоны роста на 8е, 14е и 30е сутки);

- скорость роста культур (8е, 14е и 30е сутки);
- величина зоны подавления роста мицелия (в динамике: скорость изменения зоны подавления роста).

Качественные характеристики:

- описание величины зоны нарастания антагониста или патогена (в динамике: скорость изменения зоны роста на 8е, 14е и 30е сутки);
- описание величины зоны подавления роста мицелия (в динамике: скорость изменения зоны подавления роста).

Результаты и обсуждение

Антагонистическая активность

Таблица 2 Оценка антагонистической активности *Clonostachys rosea* f. *catenulata* V1349

№ штамма/ изолята	Вид микромицета	Антагонистическая активность
		<i>Clonostachys rosea</i> f. <i>catenulata</i> V1349
1014	<i>Fusarium solani</i>	+++
874	<i>F. graminearum</i>	++
1102	<i>F. oxysporum</i>	+++
MF-R-22.16	<i>Alternaria solani</i>	+++
0915-010	<i>Rhizoctonia solani</i>	+++
VB-9	<i>Botrytis cinerea</i>	+++
MF-R-22.16	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	+++

(+++) – Полный паразитизм, II.36

(++) – Паразитизм, II.3

(+) – Двустороннее ингибирование, II.2(-) – Сосуществование с некоторым преобладающим развитием одного из участников взаимодействия с более высокой скоростью роста, I.1

(- -) – Стимуляция, III.

Результаты опыта:

Штамм *Clonostachys rosea* f. *catenulata* V1349, проявляет антагонистическую активность (полный паразитизм на 6 из 7, паразитизм на 1 из 7 изолятов фитопатогенов);

Ниже приведён пример взаимоотношения антагониста и фитопатогена. Количественные характеристики.

Таблица 3

Средний диаметр колоний <i>Clonostachys rosea</i> f. <i>catenulata</i> V1349, <i>Fusarium graminearum</i> 874 на 8е, 14е, 30е сутки, в зависимости от контроля и совместных культур, (мм)					
	к о н т р о л ь <i>C.catenulata</i> V1349	с о в м е с т н ы е к у л ь т у р ы (<i>C.catenulata</i> V1349)	к о н т р о л ь <i>F.graminearum</i> 874	с о в м е с т н ы е к у л ь т у р ы (<i>F.graminearum</i> 874)	Зона нарастания <i>C.catenulata</i> V1349 на <i>F.graminearum</i> 874
8 сутки	25,48	11,09	77,4	46,2	3,6
14 сутки	72,38	18,9	81	46,2	7,7
30 сутки	81	67,8	81	46,2	38
Стандартное отклонение	4,5	2,8	0,8	1,4	

График 3

Средний диаметр колоний *Clonostachys rosea* f. *catenulata* V1349, *Fusarium graminearum* 874 на 8е, 14е, 30е сутки, в зависимости от контроля и совместных культур, (мм)

8 сутки 14 сутки 30 сутки

В Таблице 3, показан средний диаметр колоний (мм) на 8е, 14е и 30е сутки роста, в зависимости от контроля *C.catenulata* V1349, *F.graminearum* 874 и среднего диаметра колоний при совместном культивировании, диаметр культур замеряли по отдельности, с зоной нарастания антагониста (*C.catenulata* V1349) на фитопатогене (*F.graminearum* 874).

Средний диаметр *C.catenulata* V1349 при совместном культивировании в зависимости от контроля на 8е сутки меньше в 2,2 раз, на 14е сутки меньше в 3,8 раз, на 30е сутки меньше в 1,1 раз. Это говорит о том, что *F.graminearum* 874 развивается значительно быстрее чем *C.catenulata* V1349 ~ в 3 раза, тем самым *F.graminearum* 874 занимал большую часть чашки Петри и только на 30х сутках видно более активное развитие *C.catenulata* V1349.

Средний диаметр *F.graminearum* 874 при совместном культивировании в зависимости от контроля на 8е сутки меньше в 1,6 раз, на 14е и 30е сутки снижен в 1,7 раз, это говорит о том, что *C.catenulata* V1349 проявляет антагонистическую активность по отношению к *F.graminearum* 874.

Зона нарастания *C.catenulata* V1349 поверх *F.graminearum* 874 при совместном культивировании наблюдается в динамике начиная с 8х суток и составляла 3,6мм на 14е сутки 7,7 мм, на 30е сутки 38 мм. Это говорит о том, что *C.catenulata* V1349 проявляет антагонистическую активность, по отношению к *F.graminearum* 874.

Из вышеизложенного можно сделать выводы:

Установлено, что изученный штамм *Clonostachys rosea* f. *catenulata* V1349 проявляет антагонистическую активность по отношению к 7 изолятам фитопатогенных грибов. Выявлено 2 типа взаимодействий (Паразитизм, Полный паразитизм).

Практическое применение.

Продолжаются испытания лабораторных образцов, спорового концентрата (не менее 5×10^{10} КОЕ/г) против почвенных фитопатогенов *Phytophthora cinnamomic Rands* и *Fusarium oxysporum Schltldl*. Испытания проводились в весенний период 2022г на территории Ботанического сада БИН (Санкт-Петербург), на растениях закрытого грунта в оранжерее №8. Лабораторные образцы применяли в почву, через систему капельного полива, из расчета 85 г/Га.

Были обработаны по одному экземпляру цитрусовых *Citrus reticulata Blanco*— мандарин и *Citrus limon Burm L*— лимон против *Fusarium oxysporum*, 11 экземпляров рододендронов сем. *Ericaceae* против *Phytophthora cinnamomi Rands*, 4 экземпляра против *Fusarium oxysporum Schltldl*, 4 экземпляра бегонии (сем. *Begoniaceae*) против *F.oxysporum*. Результаты биологической эффективности лабораторных образцов фиксируются в конце сезона 2022г. В дальнейшем планируются испытания на открытом грунте.

Список литературы

1. Биктимирова. З. Качество жизни: продовольственная безопасность // Экономист, 2004. - № 2— 81 с.

2. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта / Б.А.Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
3. Жученко, А.А. Ресурсный потенциал производства зерна в России / А.А.Жученко. – М.: Изд-во Агрорус, 2004. – С. 720-732.
4. Титова Ю. А. Биологические основы борьбы с грибными болезнями шампиньонов. Дисс. кандидата биол. наук. СПб. 2000. 220 с.

ВОЗМОЖНОСТИ МИКРОБНОЙ КОНВЕРСИИ ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОРМОВОГО ПРОДУКТА

Хамраева З.Т., Ахмедова З.Р., Шонахунов Т.Э., Гулямова И.Т.
Институт микробиологии АН РУз, Ташкент

Современная биотехнология имеет очень большие возможности получения биологических кормов с использованием микроорганизмов, в частности бактерий, грибов и дрожжей. Среди них особое значение имеют дрожжи, т.к. потенциальные возможности биосинтеза и секреции белков дрожжами очень высока, которые иногда достигают до 50-60 %, что в несколько раз превышает животные белки, а также растительные источники белков, такие как мясо, пшеница, соя и др. зерно - бобовые культуры. При рассмотрении белок содержащих кормов очень важное значение имеют незаменимые аминокислоты, которые определяют не только питательную, но и энергетическую ценность.

Следует отметить, что, из числа десяти незаменимых аминокислот, четыре являются критическими (лимитирующими), которые чаще всего ограничивают рост и развитие животных. Так например, в рационах птиц главными лимитирующими аминокислотами являются метионин и цистеин, в рационах свиней и других животных - лизин. Присутствие их в кормах индуцирует эффективный синтез белка. (Макарцев Н.Г. 2007)

Что касается мирового опыта, показано, что спиртовая барда имеет наибольшие перспективы как сырье для получения белоксодержащей кормовой добавки и биогаза. Оба продукта востребованы на внутреннем рынке и способны обеспечить рентабельность микробиологической переработки после спиртовой барды. (Кузнецов И. Н., 2010)

Самый важный фактор, определяющий продуктивность животных, — это сбалансированность содержащихся в них аминокислот в соответствии с физиологическими потребностями к лизину, как основной лимитирующей аминокислоте, и называется «идеальным протеином» или «идеальным профилем аминокислот».

Поэтому, целью настоящей работы является подбор, изучение оптимальных условий микробной конверсии после спиртовой барды в обогащенный кормовой продукт белками, аминокислотами, особенно с незаменимыми, путем культивирования различной рассы дрожжей.

Объектами исследования являлись после спиртовая барда, полученная из Бектемирского спиртового завода, дрожжи родов *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Rhodotorula*, *Candida*, хранившиеся в коллекции культур ИМБ АН РУз. Посевным материалом служила маточная культура дрожжей

(инокулиум), приготовленный на среде 30 % сусле, с сахаристостью 7 Бал, в течение 36 часов, содержанием клеток дрожжей 50 млн/мл КОЕ. (А. И. Нетрусова., 2005)

Основной средой культивирования явилась среда с зерновой бардой в концентрациях 5,0; 10; 20; 30 % как источник углерода, минеральные соли, диаммоний фосфат (0,2 %), сернистый аммоний (0,5 %, калий фосфорнокислый (0,2 %), рН среды -5,6-6,0. Условия культивирования - глубинная, температура- 30 °С, время-72 часа, скорость вращения качалки 120 об/мин. Посевной материал вносили в количестве 2 мл на 200 мл питательной среды.

Рост дрожжей определяли по выделению углекислого газа, накоплением биомассы и снижением исходного веса культивируемой колбы.

Количество биомассы определяли весовым методом, используя осадок после фильтрации культуральной среды (КС), взятые в динамике культивирования дрожжей через каждые 6, 12 часов роста.

Сухие вещества в КС определяли в нефелометре, согласно ГОСТ - 6687.2-90, сдвиг рН-среды – потенциометрически на приборе ЛПУ-340.

Содержание белка, образующиеся в культуральной среде в динамике роста определяли по методу Лоури и др. (Lowry, O.H., at all. 1951)

Анализ общего содержания аминокислот, содержащиеся в КЖ определяли на анализаторе высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Биоконверсию зерновой барды проводили с использованием штаммов дрожжей: *Saccharomyces cerevisiae*-609, *Hansenula anomalis* 137, *Rhodotorula glutinis* 51, *Candida tropicalis* um.82, *Candida tropicalis* um.81, *Candida mycoderma* um.86, *Candida melinii* um. 93, взятые из коллекции культур ИМБ АН РУз.

Химический состав основных веществ после спиртовой зерновой барды показали, что, в нем содержится достаточное количество питательных компонентов, такие как органические вещества (6,8), клетчатка (3,58 %), безазотистые экстрактивные вещества (3,42 %), далее белки (2,04 %) и др. Исходя из этого, питательную среду для культивирования дрожжей готовили с учетом концентраций указанных компонентов в составе жидкой зерновой барды (табл.1.).

Таблица-1.
Исходный химический состав сухой и жидкой зерновой барды

Показатели	Содержание веществ, в %	
	Сухое	Жидкая
Сухие вещества	95-97,0	17,5
Влажность	3,0-7,0	90-92
Зольные вещества	9,6	0,92
Кислотность	1,7	1,3
pH-	3,72	4,3-4,7
Органические вещества	90,4	6,78
Клетчатка	17,7	3,58
Безазотистые экстрактивные вещества	45,6	3,42
Белки	27,3	2,04

Для оптимизации были использованы различные концентрации барды в комбинации с минеральными веществами, в которых были варьированы только количества барды от 5,0 до 50 %. Изучение роста дрожжей на указанных средах показало, что, наилучший рост и накопление биомассы наблюдалось на среде с 50 % зерновой барды, внесенный в состав среды в качестве единственного источника углерода.

Учет количества клеток, выделение углекислого газа, и потеря массы среды были различными в зависимости от штаммов дрожжей и состава питательной среды. Обнаружено, что количество растущих, почкующихся клеток у испытуемых дрожжей на питательной среде, содержащей 5,0 %, 10 %, 20 % барды соответствовало низким показателями, а продолжительность роста составляла 7-10 суток, что является нерентабельным для дальнейшего использования. На среде с 30 и 40 % бардой наблюдался умеренный рост, который также длился до 5 суток. Исследования, проводимые с целью приготовления кормовых продуктов путем оптимизации состава питательной среды включением жидкой зерновой барды показали, что 50 % зерновая барда оказалась самым оптимальным продуктом, в котором содержание сухих веществ составляло 17 %. Кроме того, в составе среды находились клетчатка, азотистые и безазотистые, экстрактивные вещества, несброженные углеводы и сивушные спирты (в концентрации 0,3 %). Скорость роста, потребление питательных веществ, накопление биомассы, белков испытуемыми штаммами дрожжей отличались между собой в динамике их культивирования. Так например, скорость роста и выделение углекислого газа, накопление белка были низкими у представителей рода *Candida*. В результате подсчета клеток дрожжей, содержащиеся в КС дрожжей, взятые через каждые 12 часов показали, что, наибольшее количество клеток на данной среде наблюдались у штаммов *Saccharomyces cerevisiae* 609 (48 – час 63,4*10⁶млн/мл), *Hansenula anomalis* 137 (60 – час 20,2*10⁶

млн/мл) и *Rhodotorula glutinus* 51(72 – час 9,0*10⁶млн/мл). Следовательно, что, максимальная скорость роста отмечалась у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 609, далее шли *Hansenula anomalis* 137 и *Rhodotorula glutinus* 51 к 48 часам роста. Дальнейшее наблюдение за ростом дрожжей по образованию количества клеток показали, что, далее отмечалось снижение растущих клеток до 50 % почти у всех дрожжей в течение 108 часов роста.

Таким образом, для дальнейших исследований были отобраны данные штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 609, образующий 63,4 млн/мл клеток за 48 часов роста), *Hansenula anomalis* 137, образующий 20,2 млн клеток за 50 часов культивирования и *Rhodotorula glutinus* 51, образующий 9,0 млн клеток за 72 часа роста культур на среде с 50 % зерновой барды.

Следует учесть то, что, самый важный фактор, определяющий продуктивность животных — это сбалансированность содержащихся в среде аминокислот в соответствии с физиологическими потребностями к лизину. Поэтому, далее проводили исследования аминокислотного состава белков, образуемые активными дрожжами. Изучение содержания незаменимых аминокислот в составе белков биомассы, образующиеся штаммом дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 609 на среде с 50 % зерновой барды показали, что, самая большая концентрация имеет треонин (24 мг), лейцин (14,5 мг), фенилаланин и тирозин (11,2 мг), лизин и валин (9,9 мг и 9,1 мг), далее метионин и цистеин (8,7 мг) и другие аминокислоты (таб. 2).

Установлено, что, из 18 аминокислот самую большую концентрацию составляет треонин, лейцин, аланин, аспарагиновая кислота, фенилаланин, глицин, лизин, далее, аргинин, аспарагин и метионин, а также пролин. Триптофан, глутамин и гистидин составила самую меньшую концентрацию в составе белков, содержащихся в 100 г сухой массе биомассы дрожжей.

Таблица-2.

Аминокислотный состав белков, образуемой *Sacch. cerevisiae* шт. 609

Незаменимые аминокислоты	Содержание (мг/100 г белка)	З а м е н и м ы е аминокислоты	Содержание(мг/100 г белка)
Валин	9,1±0,06	Глицин	10,7±0,07
Гистидин	3,5±0,04	Аргинин	9,8±0,06
Изолейцин	6,1±0,06	Аланин	12,5±0,08
Лейцин	14,5±0,08	Аспарагиновая кислота	12,4±0,08
Лизин	9,9±0,07	Аспарагин	9,8±0,07
Метионин+ Цистеин	8,7±0,06	Серин	11,2±0,08
Треонин	24,0±0,12	Глутамин	4,2±0,04
Триптофан	3,1±0,04	Пролин	8,7±0,06
Фенилаланин+ Тирозин	11,2±0,08	Лейцин	

Анализ полученных результатов показал, что, после посева штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 609 уровень аминокислот увеличивается на 50%, особенно заметно увеличивается содержание глютаминовой кислоты в 1,2 раза, аспарагиновой кислоты в 3,1 раза и аргинина в 2,1 раза. Следует отметить, что, данный штамм синтезирует весь спектр аминокислот за исключением гистидина.

Проведенные исследования показали, что, возможность применения отобранных штаммов дрожжей для микробной конверсии после спиртовой зерновой барды, приводит к обогащению аминокислотного состава, улучшению белкового состава, содержащий полный спектр аминокислот в достаточной концентрации, включающие все незаменимые, с наибольшим содержанием их показателей.

Таким образом, показано возможность дрожжевой конверсии зерновой барды для использования в качестве белоксодержащей кормовой добавки привскармливания сельскохозяйственных животных и птиц.

Список литературы

1. Макарец Н.Г. Кормление сельскохозяйственных животных / Н.Г. Макарец. – Калуга: Издательство научной литературы, 2007. – 608 с.
2. Кузнецов И. Н. Анализ мирового опыта в технологии переработки послеспиртовой барды / И. Н. Кузнецов, Н. С. Ручай // Труды БГТУ. Сер. IV, Химия, технология орган. в-в и биотех-нология. – 2010. – Вып. XVIII. – С. 204–301. готс 6687.2-90
3. А. И. Нетрусова. «Практикум по Микробиологии» ACADEMIA, Москва 2005, С 22.
4. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farral, A.L. and Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
5. Steven A., Cohen Deviel J. Amino Acid Analysis Utilizing Phenylisothiocyanata Derivatives // *Analyt. Biochem.* Vol. 17. 1988.№.1.P.1-19.

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ШТАММА ГРИБА *ASPERGILLUS ORYZAE* – 5

Яхьева М.А.

Институт микробиологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Известно, что в последнее время широко используются ферменты и ферментные композиции во многих отраслях народного хозяйства, в современных биохимических анализах, клинической диагностике, анализе токсических веществ, иммуноферментных реакциях, и особенно в составе лечебных препаратов, для лечения различных заболеваний пищеварительного тракта, ожогах, гнойных заболеваниях, посттравматических и пост хирургических осложнений и т.д. Энзимопрепараты и их композиции успешно применяются при создании различных диетических продуктов питания детского и взрослого назначения. [1]

Основные промышленные микроорганизмы для производства ферментных препаратов — это микроскопические грибы родов *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium* и другие, а так-

же бактерии рода *Bacillus* и актиномицеты, которые являются активными продуцентами амилолитических, протеолитических, пектолитических и других ферментов [2]

Среди микромицетов, аспергиллы являются типичными аэрофилами, поэтому они могут развиваться только на поверхности твердой или жидкой, достаточно аэрируемой среде. Оптимальная температура для большинства аспергиллов 30-32°C. Большинство грибов при поверхностном культивировании могут переносить кратковременное повышение температуры до 40 и даже 45°C без заметной потери активности ферментов. Оптимальная влажность среды для них около 65%. [5]

Множество грибов рода *Aspergillus* образуют гидролитические ферменты, особенно протеолитически активные

белки, имеющие очень ценное промышленное значение. Протеазы (КФ-3.4.1.) относятся к промышленно важным ферментам, которые успешно используются в пищевой, фармацевтической и во многих других отраслях. В связи с этим, ферментативный гидролиз белоксодержащих субстратов различного происхождения (растений, животных и их белоксодержащих отходов) до составляющих их аминокислот и их смесей все ещё остаётся важнейшим направлением исследований в биотехнологии, где для усовершенствования биотехнологических процессов необходим поиск высокоактивных протеолитических и сопутствующих им ферментов, особенно тогда, когда используются помолы злаковых и зернобобовых культур, имеющих в своём составе помимо белков высокое содержание крахмала, целлюлозы, гемицеллюлозы, пектина и др. [3,4]. Использование животных белков, гидролизатов, мясных фарш и их разновидностей, а также пшеничного, кукурузного помола нашли широкое применение в некоторых областях пищевой промышленности Республики Узбекистан, таких как мясо-молочная, кожевенная, фармацевтическая, спиртовая, крахмал-паточная, пивоваренная. Широкая возможность могла бы найти им своё применение и в текстильной, и в целлюлозно-бумажной, и в химической промышленности [8].

При определении цели данной работы нами было уделено особое внимание некоторым факторам, диктующим природу происхождения протеолитических ферментов. В частности, пищеварительный фермент пепсин является ферментом животного происхождения, отличающиеся целым рядом свойств, но получение которого является зависимым от поставки сычуга животных, относятся к кислым протеазам и получение его является дорогостоящим.

Следовательно, изыскания микробных продуцентов образующих протеазы подобно пепсину является очень актуальным и высокоэффективным направлением как в энзимологии, так и в биотехнологии.

Исходя из вышесказанного, целью настоящего исследования явилось изучение компонентного состава протеазы в зависимости от pH –реакционной смеси, образуемой в культуральной жидкости (КЖ) гриба *Aspergillus oryzae*, а также изучение оптимальных условий ферментообразования и физические свойства образующихся ферментов в динамике роста гриба.

Экспериментальная часть

Ферментационная питательная среда для скрининга.

Культивирование гриба, *Aspergillus oryzae*-5, выделенного из картофельной мезги проводили в конических колбах емкостью 750 мл содержащей 250 мл жидкой питательной среды (3 % отруби, 2 % мука, макро- и микроэлементы в концентрациях 0,05-0,5 %, на качалке при 240 об/мин. и температуре 32°C в течении 24 - 144 часов.

Определение протеазной активности. Определение протеолитической активности осуществляли по (модифицированному методу Ансона) и ГОСТу – 20264.2-88. [6]

За единицу протеолитической активности приняли способность фермента превращать за 1 мин при температуре 30°C казеинат натрия в неосаждаемое трихлоруксусной кислотой состояние, в количестве, соответствующим 1 мкмоль тирозина.

Определение концентрации белка. Для оценки общей суммы протеолитической активности, концентрацию белка определяли по методу Лоури [9]. В качестве стандартного белка использовали бычий сывороточный альбумин.

Результаты и их обсуждение

Известно, что основным критерием в деле успешного создания новых, отечественных технологий, нужда потребителей в высокоактивных штаммах, ферментах и процессах их получения, и немаловажное свойство – физические параметры активного действия, к которым относятся pH-реакционная смесь, температура метаболитов, которые накапливаются в КЖ, остаточная концентрация субстрата в среде и др. факторы, непосредственно влияющие на образование и активности ферментов.

Для этой цели нами был использован местный, экологически приуроченный штамм микроскопического гриба *Aspergillus oryzae*.

Известно, что в процессе культивирования повышается биомасса, количество белка и с этими параметрами параллельно повышается активность фермента.

Первоначальный качественный анализ способности гриба *Aspergillus oryzae* на протеолиз белков проводили с использованием 10-15 % животного белка - желатин и растительного белка - глютена на агаризованных средах в чашках Петри. Зоны гидролиза, степени разжижения субстратов и осветления зоны вокруг колоний гриба в течение 48 - 168 часов показали гидролизующую способность культуры.

Исследования физических свойств протеазы, образуемой в КЖ гриба в течение 120 часов показали, что гриб *Aspergillus oryzae* образует протеолитические ферменты, активность которых зависит от времени культивирования и pH-реакционной смеси.

Полученные результаты показали, что гриб *Aspergillus oryzae*-5 обладает способностью накапливать в среде культивирования протеолитические ферменты, обладающие широким спектром катализа в различных диапазонах pH-реакционной смеси.

Обнаружено, что гриб *Aspergillus oryzae*-5 образует протеазы, действующие в кислых диапазонах pH в разной степени, что сближает их с протеазами животного происхождения, в частности пепсина.

Так, например, при pH 2,5 кислая протеаза образуется начиная с 72 часа роста гриба, достигая максимума к 120 часам роста, 11 ед/мл, позже наблюдали резкий спад в активности данного фермента на 144 часу роста.

При выявлении протеазной активности при pH 5,5 активность фермента начинает проявляться с 60 часа, начиная с 96-ти часов наблюдается резкий подъем, достигающий максимума к 120 часам роста, 17 ед мл. В отличии от кислой протеазы, нейтральная протеаза не теряет активности в дальнейшие сроки роста, т.е. к 144 часам обнаруживали незначительный спад в проявлении активности нейтральной протеазы.

Что касается щелочной протеазы, то активность в данном значении pH-7,2 проявляется довольно высоко к 72 часам, достигая максимума к 96 часам роста, далее наблюдается спад активности почти на 90 % к 120 часам роста, 13,9 ед/мл, тогда как к 144 часам обнаруживается незначительный подъем в активности фермента.

Весьма интересные данные были получены при исследовании активности фермента сильнощелочной среды pH- 9,0. Оказалось, что данный диапазон не оказывает негативное влияние на активность грибной протеазы, т.е. к 72 и 96 часам роста культура 5 ед/мл образует щелочную протеазу.

В проведенных выше экспериментах было обнаружено очень интересные данные, т.е. к 120 часам роста, когда остальные протеолитические активности достигают максимума, только у щелочной протеазы наблюдается резкий

спад в данной период роста, далее активность фермента возобновляется к 144 часам роста продуцента.

Таким образом, изучение роста, развития и образования протеолитических ферментов, проявляющих активность в различных диапазонах pH-среды грибом *Aspergillus oryzae*-5 показало, что данный гриб обладает уникальным свойством продуцировать протеазы, проявляющие свою активность в сильно кислой (pH- 2,5) и сильно щелочной (pH- 9,0) реакционной среде.

Эти факты имеют очень большое значение не только в понятии механизмов энзиматического катализа, но и на практике. В частности, кислая протеаза может служить источником создания лекарственных препаратов, применяющихся при лечении болезней желудочно-кишечного тракта, панкреатитов, диарейных заболеваний, язвах, ожогах.

Тогда как, щелочная протеаза может быть использована при создании биологических детергентов, моющих средств и др. целебных мазей, свечей и др. продуктов, связанных с необходимостью сильно щелочной среды.

Список литературы

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия: Учебник- М.: Медицина, 1990- С.11
2. Билай В.И., Коваль Э.З., «Аспергиллы», Киев, Наука думка 1988, С. 123.
3. Глемжа А.А., Людьюс Л.Л., Петрова Л.И. “Микробные ферменты в народном хозяйстве”. Вильнюс. “Мокслас” 1985
4. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. – М.: Высшая школа. 1980.– С.272.
5. Морозова К.А., Грачева И.М., Римарева Л.В., Оверченко Селекция штамма *A. oryzae* с целью получения активного продуцента протеолитических и амилитических ферментов // Тезисы док. Всероссийской научно-технической конференции-выставки М.: МГУПП, 2004, С. 143-145
6. Препараты ферментные, Метод определения протеолитической активности. ГОСТ 20264. 2-88, Государственный Комитет СССР по стандартам, Москва, 1988.
7. Фениксова Р.В. Плесневые грибы из рода *Aspergillus* как продуценты амилазы // «Микробиология» 1966, Т. XXII вып. №1, С. 231
8. Яхьяева М.А., Ахмедова З.Р. Протеолитические ферменты местного штамма гриба *Aspergillus oryzae*-5 и перспективы их использования. Сб. тезисов Межд.конференции «Проблемы внедрения инновационных идей. Технологий и проектов в производство», Ташкент, 2012, С. 514-516.
9. O.H. Lowry, N.J. Rosenbrough, Farr A.L., Randell R.I. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. V. 193. №1. P. 265-275.

НОВАЯ ИНТЕРНЕТ-ПЛАТФОРМА «СУПЕРГРУППЫ ЭУКАРИОТ: ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ/БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНТЕРФЕЙС» И ЕЕ ВОЗМОЖНОСТИ В НАКОПЛЕНИИ ЗНАНИЙ О ДОСТИЖЕНИЯХ В БИОТЕХНОЛОГИИ ГРИБОВ

Змитрович И.В.¹, Перелыгин В.В.², Жариков М.В.²

¹Ботанический институт имени Комарова, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург

Эукариотическая клетка представляет собой симбиотический ансамбль, своего рода суперклетку, основным свойством которой является производство и секреция «отчужденного продукта» (биополимеров, ферментов, сигнальных молекул). Эукариоты представляют собой своеобразную фабрику по производству биомассы и внеклеточной секреции с огромным биотехнологическим потенциалом.

Биотехнологическим сообществом для текущих скрининговых исследований востребована система организмов, обладающая максимальной эвристической силой [1]. Однако выбор такой системы представляет сложную задачу: в сети Интернет пользователь сталкивается с пестрой картиной конкурирующих между собой систем, являющейся следствием различной периодичности обновлений классификационной части различных баз данных по биоразнообразию, дериватов Википедии и пр.

По мнению авторов, назрела необходимость создания таксономического/биотехнологического интерфейса, позволяющего пользователю-биотехнологу оперативно выбирать наиболее адекватное современным данным классификационное решение с целью оптимизации поиска новых технологически значимых организмов, предположительно и с высокой долей вероятности несущих необходимые свойства, уже изученные у близкородственных организмов. Создание такой системы предполагает глобальный охват

сети пользователей, т.е. использование интернет-ресурсов (онлайн-каталог) и, с одной стороны, стабильный хостинг, а с другой – возможность периодического обновления классификационной части каталога с включением все новых изученных видов. При создании классификационной части следует руководствоваться консенсусными оценками текущих филогеномных реконструкций [2–5], имея в виду, что периодическое обновление классификатора гарантирует постепенное «выравнивание» текущих несовершенств, которые, несомненно, не проходят мимо внимания таксономического сообщества. Важной составляющей такого каталога должен стать учет всех биотехнологически значимых эукариотических организмов с отсекаемым полным геномом [6].

В июле 2022 г. авторы создали подобную платформу под названием «Супергруппы эукариот: таксономический/биотехнологический интерфейс» [7]. Для каждой из 10 супергрупп (*Loukozoa*, *Amoebozoa*, *Opisthokonta*, *Discoba*, *Cryptista*, *Archeplastida*, *Haptista*, *Rhizaria*, *Alveolata* и *Stramenopila*) была представлена текущая система с библиографией, охватывающей таксономические первоисточники и последние достижения в области молекулярной филогенетики, а также прикладное значение группы применительно к современным биотехнологическим исследованиям и секвенированию геномов ключевых биотехнологически

значимых видов. Эта часть планомерно охватывает как ряд классических направлений биотехнологии (пищевые технологии, биосинтез и производство биомассы, биоремедиация, биофармакология, агротехнологии), так и животноводство, растениеводство, фитопатологию, клиническую микологию и протозоологию. Отдельно представлены списки работ по последним (текущий год) систематическим исследованиям и отдельно – по работам в области биофармакологии. Ожидается, что информация на этой платформе будет обновляться ежегодно.

В разделе биофармакологии текущей версии основное внимание уделяется работам в области лекарственных грибов, что соответствует исследовательским интересам членов авторского коллектива. В дальнейших обновлениях платформы планируется выделение лечебных грибов в отдельный блок вследствие лавинообразного накопления информации в этой области.

Список литературы

1. Змитрович И.В., Псурцева Н.В., Белова Н.В. Эволюционно-таксономические аспекты поиска и изучения лигнинразрушающих грибов – активных продуцентов окислительных ферментов // Микология и фитопатология. 2007. Т. 41. Вып. 1. С. 57–78.
2. Cerón-Romero M.A., Maurer-Alcalá X.X., Grattepanche J.D. et al. PhyloToL: A taxon/gene-Rich phylogenomic pipeline to explore genome evolution of diverse eukaryotes // *Molec. Biol. Evol.* 2019. Vol. 36. N 8. P. 1831–1842. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz103>
3. Strassert J.F.H., Irisarri I., Williams T.A. et al. A molecular timescale for eukaryote evolution with implications for the origin of red algal-derived plastids. *Nature Communications*. 2021. Vol. 12. P. 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22044-z>
4. Jamy M., Biwer C., Vaulot D. et al. Global patterns and rates of habitat transitions across the eukaryotic tree of life // *Nature. Ecol. Evol.* 2022. <https://doi.org/10.1038/s41559-022-01838-4>
5. Yazaki E., Yabuki A., Imaizumi A. et al. The closest lineage of Archaeplastida is revealed by phylogenomics analyses that include *Microheliella maris* // *Open Biol.* 2022. Vol. 12. P. 210376. <https://doi.org/10.1098/rsob.210376>
6. Змитрович И.В., Перельгин В.В., Жариков М.В. Супергруппы эукариот глазами биотехнолога. Система эукариот и необходимость создания таксономического/биотехнологического интерфейса // *Формулы Фармации*. 2022. Т. 3. № 4. С. 52–65. <https://doi.org/10.17816/phf101311>
7. Zmitrovich I.V., Perelygin V.V., Zharikov M.V. Eukaryotic supergroups: Taxonomy/Biotechnology interface. 2022. <https://supergroups.ru>

Глава 11.

Культивируемые съедобные и лекарственные грибы

doi: 10.14427/cmr.2022.ix.11

МЛЕЧНИКИ PP. LACTARIUS PERS. И LACTIFLUUS (PERS.) ROUSSEL НА РЫНКАХ СТРАН МИРА

Белова Н.В.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

В работе сделана попытка обобщить данные об использовании съедобных грибов некоторых видов pp *Lactarius Pers.* и *Lactifluus (Pers.) Roussel* сам. *Russulaceae* в питании людей различных стран мира. Грибы, известные как млечники, благодаря наличию млечного сока в базидиомах, в настоящее время относят к двум родам сем. *Russulaceae* - *Lactarius Pers.* и *Lactifluus (Pers.)*, насчитывающих 450 и 207 видов соответственно (1). В ряде стран мира активно проводятся таксономические исследования млечников (2,3,4). Грибы этих родов составляют значительную часть разнообразия микоризных грибов, играющих важную экологическую роль и представляющих важный пищевой ресурс как для насекомых, так и животных, включая человека. Среди видов родов есть ряд видов съедобных, условно съедобных и несъедобных грибов.

В России изучению разнообразия грибов рода *Lactarius Pers.* в прежнем объеме посвящены немногочисленные исследования по отдельным территориям России, Дальнего Востока и Российской Арктики (5,6). Съедобные грибы среди млечников известны в мире на протяжении веков. Ряд видов рассматривают как ценные продукты для здоровья с высоким содержанием клетчатки, сахаров, полисахаридов, витаминов и микро и макро элементов. Грибы благотворно влияют на здоровье человека, благодаря содержанию биологически активных терпеноидов, стероидов, фенолов, полифенолов и полисахаридов. В пищевых целях съедобные млечники используют в нативном и ферментированном виде, а также в качестве пищевых добавок. Млечники как ценные продукты для здоровья обладают потенциальными полезными эффектами, и эти полезные действия связаны не только с присутствием биологически активных метаболитов - сескитерпеноидов, тритерпеноидов, полисахаридов, но с модуляцией микробиоты кишечника (7).

Млечники как съедобные и медицинские грибы, известны на рынках различных стран мира. В европейских странах - Италии, Франции, Турции наибольшей популярностью пользуется *Lactarius deliciosus (L.) Gray* (8). В странах юго-восточного региона на рынках среди съедобных грибов представлено большое разнообразие видов млечников. Ниже представлены виды съедобных млечников на рынках различных стран:

Lactarius deliciosus (L.) Gray, *Lactarius deterrimus Gröger* - Армения (9); *Lactarius sp.* - Болгария (10); *Lactifluus edulis (Verbeke & Buyck) Buyck*, *Lactifluus gymnocarpoides (Verbeke) Verbeke*, *Lactarius longisporus*, *Lactarius xerampelinus* - Зимбабве (11); *Lactarius hygrophoroides var. hygrophoroides*, *Lactifluus piperatus (L.) Roussel*, *Fl. Calvado*,

Lactarius scrobiculatus var. scrobiculatus, *Lactarius subindigo*, *Lactarius subpurpureus*,

Lactarius volemus var. volemus - Индия (12); *Lactarius acerrimus Britzelm*, *Lactarius akahatsu Nobuj. Tanaka*, *Lactarius austrotorminosus H.T. Le & Verbeken*, *Lactarius cinnamomeus W.F. Chiu*, *Lactarius conglutinatus X.H. Wang*, *Lactarius formosus H.T. Le & Verbeken*, *Lactarius glabrigracilis Wisitr. & Nuytinck*, *Lactarius gracilis Hongo*, *Lactarius hatsudake Nobuj. Tanaka*, *Lactarius hirtipes J.Z. Ying*, *Lactarius purpureus R. Heim*, *Lactarius rubrobrunneus H.T. Le & Nuytinck*, *Lactarius sp.*, *Lactifluus ambicystidiatus X.H. Wang*, *Lactifluus dwaliensis (K. Das, J.R. Sharma & Verbeken) K. Das*, *Lactifluus gerardii (Peck) Kuntze*, *Lactifluus hygrophoroides (Berk. & M.A. Curtis) Kuntze*, *Lactifluus leae (D. Stubbe & Verbeken) Verbeken*, *Lactifluus pilosus (Verbeken, H.T. Le & Lumyong) Verbeken*, *Lactifluus pinguis (Van de Putte & Verbeken) Van de Putte*, *Lactarius piperatus (L.) Pers*, *Lactifluus pseudoluteopus (X.H. Wang & Verbeken) X.H. Wang*, *Lactifluus rugatus (Kühner & Romagn.) Verbeken*, *Lactifluus subpruinosis X.H. Wang*, *Lactifluus volemus (Fr.) Kuntze - Kumaï (12)*; *Lactifluus pinguis (Van de Putte & Verbeken) Van de Putte*, *Lactifluus volemus (Fr.) Kuntze - Лаос (13)*; *Lactarius sp. - Мексика (14)*; *Lactarius quieticolor Romag*, *Lactarius quieticolor*, *Lactarius salmonicolor R. Heim & Leclair*, *Lactarius/ Lactifluus sp. Lactarius/ Lactifluus sp. - Польша (15)*; *Lactarius deliciosus (L.) Gray*, *Lactarius deterrimus Gröger*, *Lactarius resimus (Fr.) Fr.*, *Lactarius rufus (Scop.) Fr.*, *Lactifluus piperatus (L.) Roussel*, *Lactarius scrobiculatus (Scop.) Fr.*, *Lactarius trivialis (Fr.) Fr.*, *Lactifluus volemus (Fr.) Kuntze*, *Lactarius utilis (Weinm.) Fr. - Россия (3, 4, 16)*; *Lactarius deliciosus (L.) Gray*, *Lactarius deterrimus Gröger*, *Lactarius rufus (Scop.) Fr.*, *Lactarius trivialis (Fr.) Fr. - Финляндия (17)*.

Изучение млечников, представленных на рынках различных стран, позволит понять и оценить роль отдельных видов съедобных грибов в рационе питания и здоровья разных народов мира.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН, регистрационный номер темы ААААА19-119020890079-6

Список литературы

1. He M.Q., Zhao R.L., Hyde K.D. et al. Notes outline and divergence time of Basidiomycota // Fungal diversity. 2019. Vol. 99. P. 105-367. <https://doi.org/10.1007/S13225-019-00435-4>.
2. Каратыгин И.В., Нездойминого Э.Л., Новожилов Ю.К., Журбенко М.П. Грибы Российской Арктики. Анноти-

- рованный список видов. Изд-во СПб. гос. хим.-фармацевт. акад. 1999.
3. Род 1. *Lactarius* (DC.) S. F. Gray // Низшие растения, грибы и мохообразные советского Дальнего Востока. / Е. М. Булах, С. П. Вассер, М. М. Назарова, Э. Л. Нездоймино; Отв. ред. С. П. Вассер. — СПб.: Наука, 1990. — Т. 1. Сыроежковые, Агариковые, Паутинниковые, Паксилловые, Мокруховые, Шишкогрибовые. — 407 с. — ISBN 5-02-026578-0.
 4. Morozova O., Popov E., Kovalenko A. Studies on mycobiota of Vietnam. II. Two new species of *Lactifluus* (Russulaceae) with pleurotoid basidiomata // *Микология и фитопатология* 2013. Vol. 47, N 2. P. 92–102.
 5. Lee H., Park J.Y., Wisitrassameewong K., Kim M.J., Park M.S., Kim N.K., Lee J.K., Lim Y. W. First Report of Eight Milkcap Species Belonging to *Lactarius* and *Lactifluus* in Korea // *Mycobiology*. 2018. Vol. 46, N 1. P. 1–12.
 6. Wang X-H Seven new species of *Lactarius* subg. *Lactarius* (Russulaceae) from southwestern China // *Mycosystema*. 2017. Vol. 36. N 11. P. 1463–1482.
 7. Li M., Yu L., Zhao J., Zhang H., Chen W., Zhai Q., Tian F. Role of dietary edible mushrooms in the modulation of gut microbiota // *Journal of Functional Foods*. 2021. Vol. 83, P. 104538.
 8. Adanacioglu N., Tan A., Karabak S., Guzelsoy N., Ayas F., Aykas L. Taylan T. Economically Important Wild Mushroom Saffron Milk Cap [*Lactarius deliciosus* (L.) Gray] of Aegean Region, Turkey. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*. 2017. Vol. 27, N 2. P. 91–96.
 9. Nanagulyan S., Zakaryan N., Kartashyan N., Piwowarczyk R., Luczaj L. Wild plants and fungi sold in the markets of Yerevan (Armenia) // *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2020. Vol. 16. P. 26. <https://doi.org/10.1186/s13002-020-00375-3>.
 10. Dimitrova T. Ethnomycological research in the field of wild mushrooms and medicinal plants // *Acta Scientifica Naturalis*. 2021. Vol. 8, N 3. P. 67–83.
 11. Guerin-Laguette A., Cummings N., Butler R.C., Willows A., Hesom-Williams N., Li S., Wang Y. *Lactarius deliciosus* and *Pinus radiata* in New Zealand: towards the development of innovative gourmet mushroom orchards // *Mycorrhiza*. 2014. Vol. 24, N 7. P. 511–523. doi:10.1007/s00572-014-0570-y.
 12. Wang R., Herrera M., Xu W., Zhang P., Pérez-Moreno J.P., Colinas C., Yu F. Ethnomycological study on wild mushrooms in Pu'er Prefecture, Southwest Yunnan, China // *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2022. Vol. 18. P. 55.
 13. <https://doi.org/10.1186/s13002-022-00551-7>.
 14. Łuczaj L., Lamxay V., Tongchan K., Xayphakatsa K., Phimmakong K., Radavanh S., Kanyasone V., Pietras M., Karbarz M. Wild food plants and fungi sold in the markets of Luang Prabang, Lao PDR // *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2021. Vol. 17. P. 6. <https://doi.org/10.1186/s13002-020-00423-y>.
 15. Pérez-Moreno J., Martínez-Reyes M., Yescas-Pérez A., Delgado-Alvarado A., Xoconostle-Cázares B. Wild mushroom markets in central Mexico and a case study at Ozumba. // *Econ Bot*. 2008. Vol. 62, N 3. P. 425–36.
 16. Kasper-Pakosz R., Pietras M., Łuczaj L., Wild and native plants and mushrooms sold in the open-air markets of south-eastern Poland // *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2016. Vol. 12. P. 45. <https://doi.org/10.1186/s13002-016-0117-8>.
 17. Singer R- The Agaricales (Mushrooms) in Modern taxonomy. 1949. *Lilloa* 22, 472, 506. 832.
 18. Viinisalo M., Nikkilä M., Varjonen J. Changes in the consumption of foods in households during the years 1966–2006. National Consumer Research Centre, Publications 2008. N 7. 34 p. + appendices. (In Finnish with English summary).

О СОДЕРЖАНИИ МЕТАЛЛОВ И МЕТАЛЛОИДОВ В ПЛОДОВЫХ ТЕЛАХ БЕЛОГО ГРИБА (РОД *BOLETUS* S. STR.)

Иванов А.И.

Пензенский государственный аграрный университет

Изучение элементного состава плодовых тел грибов класса агарикомицетов имеет большое значение с точки зрения понимания особенностей физиологии и биохимии этих организмов. Как показывает анализ литературных данных, а также оригинальные исследования автора, способность накапливать в клетках химические элементы в значительно больших количествах, чем в питающих субстратах, имеет видовую специфичность и слабо зависит от их содержания в окружающей среде. Это указывает на то, что разные виды агарикомицетов, испытывают не одинаковую потребность в металлах и металлоидах. Это в конечном счете определяется особенностями их ферментных комплексов.

Целью данной работы было изучение элементного состава плодовых тел агарикомицетов, объединяемых в род *Boletus* s. str., которые в русской микологической ди-

тературе известны под общим названием белый гриб. Среди них наиболее широким распространением характеризуются *Boletus edulis* Bull., *B. pinophilus* Pilát et Dermek u *B. reticulatus* Schaeff. На них приходится основная часть любительских и промышленных заготовок белых грибов в нашей стране. По вкусовым качествам и органолептическим свойствам рассматриваемые виды очень сходны. Все они относятся к первой категории ценности. Рассматриваемые виды не только представляют собой деликатесный пищевой продукт. Они обладают рядом лекарственных свойств, в частности, тонизирующим и противоопухолевым эффектом (Ли юй). Несомненно, на их проявление оказывает и элементный состав.

Материалом для данного сообщения послужили результаты исследований, проводившихся под руководством автора на базе Пензенского государственного аграрно-

го университета и лаборатории Филиала Федерального управления по безопасному хранению и уничтожению химического оружия при министерстве промышленности и торговли РФ (войсковая часть 21222), 2004 по 2021 г.

В качестве района исследований была выбрана Пензенская область. Этот регион располагается в пределах Приволжской возвышенности в 600 км к юго-востоку от Москвы. Ему свойственны лесостепные ландшафты, для которых характерно чередование островных лесных массивов с обширными пространствами распаханых степей. Хорошая влагообеспеченность и разнообразие экотопов определяют обильное плодоношение и богатство видового состава агарикомицетов. Отсутствие крупных промышленных объектов энергетики, металлургии и химической промышленности, следствием работы которых может быть локальное загрязнение окружающей среды различными химическими элементами, позволяет рассматривать Пензенскую область как фоновую территорию, в пределах которой содержание в природных средах металлов и металлоидов связано с её геохимическими особенностями и глобальным переносом поллютантов. Анализ образцов грибов на содержание металлов и металлоидов, выполнялся на атомно-адсорбционном спектрометре МГА-915 МД.

Для оценки характера накопления химических элементов рассматриваемыми видами грибов нами проводилось сравнение их содержания со средним показателем для 13 основных видов съедобных грибов, заготавливаемых в регионе (далее ОВСГ) таких как Это *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink, *Boletus edulis* Bull., *Cantharellus cibarius* Fr., *Lactarius citriolens* Pouzar, *L. deliciosus* (L.) Gray, *L. torminosus* (Schaeff.) Gray, *Leccinum aurantiacum* (Bull.) Gray, *L. scabrum* (Bull.) Gray, *L. versipelle* (Fr. et Hök) Snell, *Russula chloroides* (Krombh.) Bres., *Suillus bovinus* (L.) Roussel, *Suillus granulatus* (L.) Roussel, *S. luteus* (L.) Roussel.

Среднее содержание селена для ОВСГ составило 5.2 мг/кг. В наибольшем количестве 30.0 мг/кг рассматриваемый элемент содержали плодовые тела *B. pinophilus*. Содержание рассматриваемого элемента в его плодовых телах было не только значительно выше среднего показателя для ОВСГ, оно было самым высоким для пятидесяти видов использовавшихся в исследовании. Для *B. edulis* содержание селена выражалось близким к максимальному значением и составляло 29.2 мг/кг. В плодовых телах *B. reticulatus* концентрация рассматриваемого элемента была несколько ниже – 19.1 мг/кг. На высокое содержание селена в биоматериале *B. edulis* указывают и другие авторы. Таким образом, рассматриваемые виды среди съедобных грибов выделяются наиболее высоким содержанием этого дефицитного микроэлемента. Их плодовые тела могут использоваться как пищевая добавка, компенсирующая недостаток селена в пищевых продуктах растительного происхождения, содержание селена в которых обычно не превышает 0.23 мг/кг.

Среднее содержание цинка в ОВСГ – 83.35 мг/кг. Наиболее богаты этим микроэлементом плодовые тела *B. pinophilus*. Его содержание в них составляет 111.45 мг/кг. Для *B. reticulatus* среднее содержание цинка также несколько выше среднего показателя для ОВСГ и составляет 93,11 мг/кг. Наименьшее количество этого элемента – 80.86 мг/кг было определено для *B. edulis*.

Средний показатель содержания хрома для ОВСГ составляет 0.60 мг/кг. Среди видов белого гриба наиболее активно данный элемент накапливает *B. edulis*. В плодовых телах этого гриба его содержание превышает средний показатель и составляет 0,97 мг/кг. Для *B. pinophilus* среднее содержание хрома составляет 0.59 мг/кг, а для *B. reticulatus*

– 0.51 мг/кг, т.е. оно выражается значениями близкими к среднему показателю.

Средний показатель содержания марганца для ОВСГ съедобных составляет 13,78 мг/кг. Изученные виды белых грибов относительно бедны этим элементом, т.к. все определенные для них значения ниже среднего показателя. Наиболее богат этим элементом *B. edulis*, в плодовых телах которого он содержится в концентрации 11.45 мг/кг. Для *B. pinophilus* содержание марганца выражается близким значением и составляет 10.13 мг/кг. В плодовых телах *B. reticulatus* содержание марганца значительно ниже – 4.68 мг/кг.

Среднее содержание железа в плодовых телах ОВСГ составляет 113.63 мг/кг. Рассматриваемые виды относятся к группе грибов, слабо накапливающих этот элемент. Наиболее богат им *B. edulis*, для которого определенная величина составила 102.25 мг/кг. Среднее содержание железа в плодовых телах *B. pinophilus* и *B. reticulatus* выжалось близкими величинами и составляло 64.81 мг/кг и 65,54 мг/кг соответственно.

Среди токсичных элементов виды белого гриба наиболее активно накапливают кадмий. Его среднее содержание в плодовых телах всех рассматриваемых видов превышает средний для ОВСГ показатель, который составляет 0.032 мг/кг. Для *B. edulis* среднее содержание кадмия составляет 0.087 мг/кг, *B. reticulatus* – 0.077 мг/кг, а для *B. pinophilus* – 0.063 мг/кг. На высокое содержание кадмия в плодовых телах *B. edulis* указывают и другие авторы.

Среднее содержание мышьяка для ОВСГ составляет 3,06 мг/кг. В наибольшем количестве – 2.23 мг/кг он содержится в плодовых телах *B. reticulatus*. В плодовых телах *B. edulis* его несколько меньше – 1.27 мг/кг. Для *B. pinophilus* содержание мышьяка выжалось минимальным показателем и составляло 0.70 мг/кг.

Средний показатель содержания свинца для ОВСГ составляет 1,60 мг/кг. В количестве, превышающем эту величину, рассматриваемый элемент накапливает *B. edulis*. Среднее содержание свинца в его плодовых телах составляет 2.61 мг/кг. Такие виды, как *B. pinophilus* и *B. reticulatus* накапливают этот элемент в значительно меньших количествах. Для *B. pinophilus*, определенная в результате измерений концентрация, составила 0.70 мг/кг, для *B. reticulatus* – 0.06 мг/кг.

На основе изложенных данных можно заключить, что, не смотря на таксономическую близость, использованные в исследованиях виды, проявляют индивидуальные особенности в отношении накопления в плодовых телах металлов и металлоидов. Наиболее активно накапливает рассматриваемые химические элементы *B. edulis*. Для плодовых тел этого вида были определены максимальные значения содержания селена, хрома, марганца, железа, кадмия и свинца. *B. pinophilus*, по сравнению с *B. edulis* и *B. reticulatus*, наиболее активно накапливает цинк. В то же время определенные нами концентрации селена и марганца у этого вида были очень близки к таковым в плодовых телах *B. edulis* и различия их величин находились в пределах ошибки измерений. Среди изученных химических элементов *B. reticulatus* по сравнению с другими видами белого гриба в наибольших количествах накапливает только мышьяк. Содержание селена, хрома, марганца, железа и свинца в его плодовых телах оказывается меньшим, чем у *B. edulis* и *B. pinophilus*. По содержанию цинка он превосходит *B. edulis*, но уступает *B. pinophilus*. По содержанию кадмия *B. reticulatus* наоборот, превосходит *B. pinophilus*, но уступает *B. edulis*.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ВИДЫ ГРИБОВ ИЗ ПОРЯДКА AGARICALES UNDERW., ПРОИЗРАСТАЮЩИЕ В ЛЕСНЫХ СООБЩЕСТВАХ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

Мелькумов Г.М., Богатырёва Ю.С.
ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Значительный прогресс в области экспериментальной микологии, накопление знаний в области химического состава клеточек грибов и их субклеточных фракций на различных стадиях процесса онтогенеза позволили создать новое направление для науки, такое как медицинская микология, приобретающее всё большее значение в лекарственной промышленности. Разнообразные грибные метаболиты, включая антибиотики, полисахариды, ферменты и другие вещества, уже давно применяются в качестве лекарственных средств (Мелькумов, Колесникова, 2020).

Сбор материала (плодовых тел лекарственных макромицетов) в полевых условиях проводился в течение всего бесснежного периода 2021-2022 гг. в ходе маршрутно-рекогносцировочного обследования лесных сообществ Воронежской области.

В ходе исследования осматривались живые и валежные стволы деревьев, почва и лиственный опад. Каждый собранный образец гриба помещался в бумажный пакет с указанием «черновой» полевой этикетки, включающей данные о названии гриба, местообитании, местонахождении, даты сбора, ФИО коллектора. После сбора и камеральной обработки материала, каждый образец помещался в «чистовой» бумажный пакет (или зип-пакет), приводилась «чистовая» этикетка, а затем – размещался в коробку в гербарном шкафу для дальнейшего хранения. При этом данные с гербарных этикеток заносятся в Базу данных микологической коллекции кафедры ботаники и микологии ВГУ.

Идентификация грибов лесных сообществ Воронежской области, в том числе видов, обладающих фармакологическими свойствами, осуществлялась с помощью определителей и монографий – Сержанина (1967); Федоров (1994); Афанасьев, Хмелев (2000); Лессо (2007); Эванс, Кибби (2008); Гарибова (2009); Двин (2009); Кибби (2009); Большая иллюстрированная энциклопедия (2012); Янсен (2013); Филиппова (2013); Матанцев, Матанцева (2014) и др. Для определения трофической структуры микобиоты использовалась шкала трофических групп, предложенная А.Е. Коваленко (1980).

Названия таксонов грибов приводятся с данными Интернет-ресурса <http://www.mycobank.org> (по состоянию на 20.08.2022) и расположены согласно системе, представленной в 10-м издании Словаря грибов Айнсфорта и Бисби (Kirk al., 2008).

Лекарственные (фармацевтические) свойства выявленных грибов Воронежской области устанавливались по Хмелеву, Ртищевой (1994), Филипповой (2013), Матанцеву, Матанцевой (2014), Вишневскому (2018).

В результате проведенного микологического исследования было обнаружено 80 видов лекарственных грибов, встречающихся на различных субстратах района исследования, относящихся к отделу *Basidiomycota*, классу *Agaricomycetes*, порядку *Agaricales*, 22 семействам и 47 родам.

Наибольшее число видов грибов относится к семействам *Agaricaceae* (15; 68,2 %), *Tricholomataceae* (11; 50,0 %), *Cortinariaceae*, *Strophariaceae* (7; 31,8 %), *Amanitaceae*, *Omphalotaceae* (5; 22,7 %), *Hygrophoraceae*, *Psathyrellaceae*,

(4; 18,2 %), *Mycenaceae*, *Physalacriaceae*, *Pleurotaceae* (3; 13,6 %), *Lyophyllaceae*, *Marasmiaceae*, *Pluteaceae* (2; 9,1 %). По одному виду представлено у *Clavariaceae*, *Entolomataceae*, *Fistulinaceae*, *Hydnangiaceae*, *Inocybaceae*, *Schizophyllaceae* (4,5 %).

Ведущими по видовому составу являются рода *Cortinarius* (7; 14,9 %), *Agaricus* (6; 12,8 %), *Amanita* (5; 10,6 %), *Tricholoma* (4; 8,5 %), *Coprinellus*, *Lycoperdon*, *Pholiota*, *Pleurotus* (3; 6,4 %), *Gymnopus*, *Hygrophorus*, *Hypholoma*, *Lepista*, *Mycetinis*, *Panellus* (2; 4,3 %). Под *Ampulloclitocybe*, *Armillaria*, *Bovistella*, *Calocybe*, *Calvatia*, *Clavaria*, *Clitopilus*, *Coprinus*, *Coprinopsis*, *Crepidotus*, *Crucibulum*, *Cyathus*, *Fistulina*, *Flammulina*, *Hygrocybe*, *Infundibulicybe*, *Inocybe*, *Kuehneromyces*, *Laccaria*, *Lyophyllum*, *Macrolepiota*, *Marasmius*, *Megacollybia*, *Mycena*, *Omphalotus*, *Oudemansiella*, *Pluteus*, *Rhodocollybia*, *Schizophyllum*, *Stropharia*, *Tricholomopsis*, *Volvarellia* включают всего лишь по 1 виду (2,1 %).

Среди выявленных видов лекарственных грибов Воронежской области преобладают сапротрофы (55 видов), представленные моно- (34) и полисапротрофами (21). Большую долю обнаруженных видов составляют грибы, образующие микоризу с древесными растениями (симбиотрофы) (19). Наименьшее число относится к группе грибов со смешанным типом питания (6).

Подавляющее число представителей грибов относят к съедобным (49 видов; 61,3 % от общего числа видов). Меньшим числом представлены виды, принадлежащие к несъедобным (15; 18,8 %), ядовитым (11; 13,8 %) и условно-съедобным (5; 6,3 %).

Большинство таксонов лекарственной микобиоты Воронежской области могут применяться для получения веществ, обладающих антибактериальной активностью (47; 58,8 % от числа фармацевтически важных видов), 44 вида (55,0 %) – для лечения онкологических заболеваний, 21 (26,3 %) – обладает противовоспалительным действием, 15 (18,8 %) – иммуностимулирующими свойствами, 13 (16,3 %) – антиоксидантной активностью и противовоспалительным действием. При заболеваниях сахарным диабетом и сердечно-сосудистой системы применяются 10 видов грибов (12,5 %), при стрессах, депрессии и алкоголизме – 9 (11,3 %), противогрибковой активностью, а также при болезнях желудочно-кишечного тракта, гипертонии, нарушениях уровня холестерина в крови используются 8 представителей (10,0 %). Для лечения заболеваний, связанных с нарушением нервной деятельности, применимы 7 видов макромицетов (8,6 %), при болезнях печени и почек могут использоваться плодовые тела 5 грибов (6,3 %), 3 таксона (3,8 %) – обладают антипаразитарной активностью и применяются при нарушении зрения, при химиотерапии, выводе радионуклеидов, в то время как для лечения заболеваний легких и половой системы используют всего 1 вид лекарственных грибов (1,3 %).

Чаще всего в качестве источника выделения полезных веществ выступают плодовые тела (77 видов грибов; 96,3 %), в меньшей степени используются мицелий (11; 13,8 %) и культуральная жидкость (5; 6,3 %). В фармакологическом

плане обычно используются настои (72; 90,0 %) и порошок (13; 16,3 %), реже – вытяжки (10; 12,5 %), полученные из плодовых тел лекарственных грибов, и мази (5; 2,9 %).

Таким образом, детальное изучение видового состава, экологических и фармацевтических особенностей мико-биоты Воронежской области позволят дать более полную микологическую картину рассматриваемой территории.

Список литературы

1. Мелькумов Г.М. Лекарственные грибы Новоусманского района Воронежской области / Г.М. Мелькумов, Т.Е. Колесникова // Актуальные вопросы экологии и паразитологии: материалы онлайн-конференции с международным участием, посвященной памяти доктора биологических наук, проф. Л.Н. Хицовой (г. Воронеж, 21 мая 2020 г.). – Воронеж, 2020. – С. 53-55.
2. Сержанина Г.И. Съедобные и ядовитые грибы. Определитель / Г.И. Сержанина. – Минск: Наука и техника, 1967. – 184 с.
3. Федоров Ф.В. Грибы / Ф.В. Федоров. – М., 1994. – 366 с.
4. Афанасьев А.А. Биоразнообразие и экологические особенности базидиальных макромицетов бассейна Среднего Дона / А.А. Афанасьев, К.Ф. Хмелев. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 2000. – 187 с.
5. Лессо Т. Грибы / Т. Лессо – М.: Астрель, 2007. – 208 с.
6. Эванс Ш. Энциклопедия. Грибы / Ш. Эванс, Дж. Кибби. – М.: АСТ-Астрель, 2008. – 26 с.
7. Гарибова Л.В. Популярный атлас-определитель. Грибы / Л.В. Гарибова. – М.: Дрофа, 2009. – 350 с.
8. Двин Ф. Грибы / Ф. Двин. – М.: АСТ: Астрель, 2009. – 303 с.
9. Кибби Дж. Атлас грибов: Определитель видов / Дж. Кибби. – СПб.: Амфора. ТИД Амфора, 2009. – 269 с.
10. Большая иллюстрированная энциклопедия. Грибы России. – Вильнюс: UAB «BESTIARY». 2012. – 224 с.
11. Янсен П. Все о грибах / П. Янсен. – Вильнюс: UAB «BESTIARY», 2014. – 128 с.
12. Филиппова И. Большая иллюстрированная энциклопедия. Лечебные грибы. Фунготерапия / И. Филиппова. – Вильнюс: UAB «Bestiry», 2013. – 120 с.
13. Матанцев А.Н. Все о лечебных свойствах грибов / А.Н. Матанцев, С.Г. Матанцева. – Вильнюс: UAB «Bestiary», 2014. – 120 с.
14. Коваленко А.Е. Экологический обзор грибов из порядков Polyporales s.str., Boletales, Agaricales s.str., Russulales в горных лесах центральной части Северо-западного Кавказа / А.Е. Коваленко // Микология и фитопатология. – Л., 1980. – Т. 14, вып. 4. – С. 301.
15. Kirk P.M. Dictionary of the Fungi / P.M. Kirk, P.F. Cannon, D.W. Minter, J.A. Stalpers. – Wallugford: CABT Europe – UK, 2008. – 771 p.
16. Хмелев К.Ф. Нетрадиционные целители / К.Ф. Хмелев, А.И. Ртищева. – 1994. – 64 с.
17. Вишневский М.В. Лекарственные грибы России / М.В. Вишневский. – М.: Проспект, 2018. – 70 с.

УРОЖАЙНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ СЪЕДОБНЫХ ГРИБОВ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

Михалева Л.Г.

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, г. Якутск

Ценным недревесным сырьем якутских лесов являются грибы. Не менее 80 представителей мико-биоты Якутии являются съедобными грибами. Грибы не только являются ценным пищевым сырьем, но и играют большую экологическую роль в жизни леса, так как почти все образуют микоризу с одной, несколькими или со многими древесными породами, что особенно важно для растений Якутии, так как из-за сплошного распространения вечной мерзлоты объем их корневого питания значительно меньше, чем в других регионах России (Вечен ли лес..., 1999).

Раньше якуты не употребляли в пищу грибы (Угаров, Михалева и др., 2009; Михалева, 1993). Но с промышленным освоением Якутии происходила миграция населения из европейской части СССР, что привнесло в пищевые традиции аборигенного населения культуру потребления и заготовки дикорастущих грибов.

К сожалению, сбор дикорастущих грибов – дело очень нестабильное – грибы растут месяц, от силы – два в году, причем не каждый год урожайный. Урожай грибов сильно зависит от погодных условий, прежде всего от количества летних осадков и сроков их выпадения. Большое значение имеет также температура воздуха в летние месяцы – сильная жара угнетает рост грибов.

Учет продуктивности пищевых ресурсов грибов проводился, как правило, маршрутным методом на ленточных площадках длиной 100 м и шириной 1 м в различных типах

растительности в 3-х кратной повторности. Взвешивался отдельно каждый вид (табл.1).

Микофенотические исследования, проведенные ранее, выявили, что в Якутии имелся только один грибной слой (сезон) – позднелетний (Петренко, 1978). Первые единичные грибы появлялись в конце первой декады июля. Массовый урожай же отмечался в основном в августе. Максимум урожайности приходился на вторую половину августа – начало сентября. Однако в последние три десятилетия, видимо в связи с потеплением климата, отмечено, что агарикоидные макромицеты нередко стали иметь два слоя плодоношения. Первая волна появления грибов приходится на вторую половину июня – первую декаду июля. Как правило, этот слой не очень урожайный, и обилие грибов сильно зависит не только от весенней температуры воздуха, но и от количества осенних осадков предыдущего года. В июне можно найти подосиновики, сыроежки, боровики. В большем количестве – до 20кг/га, появляются плодовые тела подберезовиков. Следует отметить, что для уточнения экспериментальных данных следует в будущем продолжить полевые работы.

Наиболее интенсивное плодоношение микоризных грибов отмечается не под пологом леса, а на относительно осветленных участках – на вырубках, вдоль дорожек и тропинок, на опушках и пр. Кроме того, урожайность грибов зависит от возраста лесной формации – в молодняках уро-

жаи грибов обычно выше, чем в приспевающих и спелых лесах, и от погодных условий конкретного года. Данные по урожаю грибов колеблются значительно в зависимости от погодных условий, в первую очередь от количества осадков. Например, урожай подберезовика составляет в разные годы от 2,8 до 196 кг/га (Петренко, 1978).

Наиболее продуктивны в отношении урожая грибов смешанные леса, молодые сосняки, березняки и старые вырубки в лиственничниках брусничных (Петренко, 1978).

В лесах Якутии встречается достаточно много видов съедобных грибов, относящихся к I-II категории. Наиболее ценным из них считается белый гриб или боровик (*Boletus edulis*). Он растет в сосновых, смешанных и лиственничных лесах с примесью березы, образуя микоризу с березой, сосной и елью. Еще в 70-е годы XX века белый гриб не был известен в Якутии или встречался очень редко. Но с середины 90-х г.г. урожайность его в Якутии сильно возросла (Mikhaleva, 2001).

Самым популярным среди местного населения грибом является масленок сосновый (*Suillus luteus*). Этот гриб широко распространен в сосновых лесах, встречается в кедровостланиковых сообществах, а также во всех насаждениях, где встречается сосна, так как образует микоризу с двухвойными (сосна обыкновенная) и пятихвойными (кедр сибирский, кедровый стланик) соснами. Урожай этих грибов может быть большим - до 45-70 кг/га за день. Также только в симбиозе с родом *Pinus* (сосна) произрастают моховик (*Suillus variegatum*) и рыжик (*Lactarius deliciosus*).

Узкоспецифичными видами являются также масленок лиственничный (*Suillus clintonianus* и *Suillus grevillei*) – эти грибы образуют микоризу только с лиственницей (*p. Larix*), и подберезовик (*Leccinum scabrum*), растущий только в симбиозе с березой (*Betula*).

Урожайность грибов в якутских лесах бывает очень большой - суточный сбор в отдельные годы превышает 1,5 ц/га. Конечно, данные эти завышены, т.к. исследования урожайности грибов проводились в заведомо «грибных» местах и в заведомо «грибное» время года (Петренко, 1978) с учетом 100% площади ГЛФ. К тому же выборка по годам из литературных источников не слишком большая.

Величина урожая грибов зависит не только от обилия плодоношения, но и от размера их плодовых тел. Средний вес белого гриба составляет примерно 140 г, масленка настоящего – 24 г. Кроме того, знание только сроков плодоношения грибов недостаточно для организации их массовых заготовок (Лапицкая, 1986). Как правило, в начале плодоношения биомасса грибов невелика, а концу «слоя» наблюдается повышенная червивость грибов. По данным В.И. Шубина (1969) в неблагоприятные для произрастания годы насекомые повреждают более 70% грибов, в благоприятные – около 14%.

При расчете объемов возможной заготовки грибов необходимо учитывать такие факторы как доступность местообитаний основных видов и поражение грибов «червями» - личинками грибных мух и грибных комаров. Се-

зон массового урожая грибов в зависимости от погодных условий и вида грибов длится от 1 до 6 недель. При расчете урожайности мы рекомендуем учитывать среднюю продолжительность сезона (15 дней).

Таким образом, по экспертной оценке эксплуатационный запас сырья составляет не более 30% от валового его запаса.

Изучением съедобных грибов Центральной Якутии занимались И.А. Петренко (1978), Л.С. Лапицкая (1986), Л.Г. Михалева (Mikhaleva, 2009) и др. На основе анализа литературы (Лапицкая, 1986; Петренко, 1978; Растительный мир..., 2005), собственных материалов и сборов последних лет был составлен список видов грибов, являющихся ценным пищевым и лекарственным ресурсом.

Данные разных авторов по биологической урожайности популярных среди населения съедобных грибов Центральной Якутии приведены в таблице 1.

Центральная Якутия – засушливый регион, среднее количество осадков здесь в среднем составляет около 200 мм в год, причем основное их количество приходится на холодное время года. Летние температуры в июле могут превышать +35°C. Такие условия не очень благоприятны для роста грибов, однако урожаи некоторых видов бывают весьма значительны. И.А. Петренко (1978) приводит следующие цифры: разовый сбор масленка (*Suillus luteus*) – 41-75 кг/га; подберезовика (*Leccinum scabrum*) – 196 кг/га (в лиственничнике). Общая биомасса грибов более 640 кг/га на маршрутах (Петренко, 1978). Влагу, достаточную для роста и развития грибов, обеспечивает в начале вегетационного периода сезонное таяние мерзлоты, а в августе-сентябре, когда суточная амплитуда температуры атмосферного воздуха становится значительной – обильные росы и туманы.

Наиболее продуктивны в отношении запасов грибов сосняки, широко распространенные в среднем течении р. Лены, березняки и смешанные леса, а также лиственничники и лиственничные вырубки на водоразделе.

Лесные пожары в лесах Центральной Якутии наблюдаются часто. В среднем каждый конкретный массив горит с периодичностью 15-17 лет (Исаев,...Михалева и др., 2010). Поэтому в лесах, как сосновых, так и лиственничных, всегда есть примесь березы как послепожарного индикатора, от единичных экземпляров до 3-4 единиц в составе древостоя. Кроме того, в сосняках часто наблюдается примесь лиственницы, а в лиственничниках, особенно вблизи населенных пунктов – примесь сосны. В связи с этим, видовой состав микобиоты весьма богат. Беглые низовые пожары, которые не уничтожают травяно-кустарничковый покров, не затрагивают грибницу, расположенную в почве, поэтому на обилие грибов на следующий год такие пожары не влияют. Если травяно-кустарничковый покров после пожара уничтожается полностью, то в сосняках на несколько лет прекращается плодоношение рыжиков. Зато начинают плодоносить в начале лета сморчки и строчки, осенний же урожай маслят после таких пожаров, как правило, бывает средним.

Таблица 1. Биологическая урожайность грибов в Якутии (сырой вес, кг/га)

Русское название вида	Латинское название вида	Данные Петренко (1978)	Данные Лапицкой (1986)	Данные Михалевой
Белый гриб (боровик)	<i>Boletus edulis</i>	-	-	3-12
Масленок настоящий (сосновый)	<i>Suillus luteus</i>	3-75	2-29	1-23
Масленок желто-бурый (моховик)	<i>Suillus variegatus</i>	6-20	+	3-63
Подберезовик	<i>Leccinum scabrum</i>	-	10-233	2-154
Подосиновик	<i>Leccinum aurantiacum</i> ; <i>Leccinum testaceo-scabrum</i>	9-12,6	-	2-5
Груздь	<i>Lactarius aquizonatus</i> ; <i>Lactarius resimus</i>	-	19-89	11-23
Рыжик	<i>Lactarius deliciosus</i>	2,5-7	+	4-44
Масленок лиственничный	<i>Suillus grevillei</i> ; <i>Suillus clintonianus</i>	1-19,7	1-55	1-98

Таким образом, в Центральной Якутии произрастает не менее 80 видов съедобных грибов, более 10 из них являются ценным пищевым сырьем. Урожайность этих грибов в отдельные годы очень высока.

В последние три десятилетия, на фоне повышения среднегодовых температур, на территории Якутии наблюдается два пика массового урожая грибов – раннелетний и позднелетний, кроме того, массовые урожаи дает белый гриб (*Boletus edulis*), который до 90-х годов 20 века в Якутии не произрастал.

Урожайность грибов в Центральной Якутии зависит не только от количества и сроков выпадения летних осадков, но также от обилия рос и туманов, и количества осенних дождей в осенний период предыдущего года.

Беглые низовые пожары на урожайность грибов на следующий год не влияют. Но если травяно-кустарничковый покров после пожара уничтожается полностью, то в сосняках на несколько лет прекращается плодоношение рыжиков, осенний же урожай маслят после таких пожаров, как правило, бывает средним.

Список литературы

1. Вечен ли лес на вечной мерзлоте. Как организовать общественный мониторинг в лесах мерзлотной зоны.//

П.А. Тимофеев, А.П. Исаев, Л.Г. Михалева и др. Якутск: Изд-во Якутского госуниверситета, 1999. 131 с.

2. Исаев А.П., Михалева Л.Г., Чикидов И.И. ИБПК СО РАН. Расчет ущерба объектам растительного покрова при разработке полезных ископаемых
3. Mikhalyova L.G. The expansion of areas of rare fungi species in connection with the global change. // The role of permafrost ecosystem in global climate change. Yakutsk, RUSSIA: Yakutsk Scientific Center Publishing House, 2001. p. 129-132
4. Лапицкая Л.С. Изучение съедобных грибов в лесах Сибири // Почвы и лес: Тез. Докл. XI Всесоюз. симпозиума «Биологич. Проблемы Севера». Якутск, 1986.
5. Михалева Л.Г. Значение трутовых грибов в жизни коренного населения Якутии // Тез.докл. Международного семинара-симпозиума “Экологические традиции аборигенов Севера в интересах выживания человечества”. Якутск: изд-во ЯНЦ, 1993 С.65-66
6. Петренко И.А. Макро- и микромицеты лесов Якутии. Новосибирск, Наука. 1978. 133 с.
7. Угаров Г.С., Михалева Л.Г., Абрамов А. Ф., Попова М.Г. Грибы Якутии Якутск: Изд-во Бичик, 2009 г. 96 с.
8. Шубин В.И. Грибы северных лесов. Петрозаводск: Карелия, 1969. - 149 с.

РАСПРОСТРАНЕННЫЕ В АЗЕРБАЙДЖАНЕ СЪЕДОБНЫЕ ВИДЫ КСИЛОТРОФНЫХ МАКРОМИЦЕТОВ И ИХ РЕСУРСНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ

Мурадов П.З., Алиева Б.Н., Сеидова Г.М*, Бахшалиева К.Ф.,

Институт Микробиологии Министерства Науки и Образования Азербайджанской Республики, Баку.
*Азербайджанский Медицинский Университет, Баку

Грибы, в том числе ксилотрофные макромицеты (КМ), находятся в центре внимания как продуценты многих биологически активных веществ таких как белки, ферменты, полисахариды, липиды, органические кислоты и др. [1], и даже в некоторых странах на их примере реализованы производственные процессы. По сравнению с веществами, полученными химическим синтезом, эти вещества являются биологически, в том числе фармакологически активными, обладают менее токсическим действием, а их применение не приводит к побочным эффектам.

В исследованиях, проведенных до настоящего времени, из грибов получено более 3000 веществ, в среди которых имеются соединения с антибиотическими, противоопухолевыми, иммуномодулирующими, гипополипидемическими, гепатопротекторными, антигельминтными, гипотензивными, инсектицидными, антитромботическими и антидиабетическими свойствами [2-3]. Поскольку антибиотики и другие лекарственные средства, получаемые из грибов, наряду со стимулированием иммунной системы в организме человека, обладают эффективным антибактериальным, противогрибковым и противоспидным действием [4, 5].

Если учесть, что лекарственные препараты, полученные из грибов, не оказывают отрицательного воздействия на организм, а также являются экономически более дешевым и выгодным сырьем, чем растительные и животные источники, то становится очевидным, насколько актуальными являются проводимые в этом направлении исследования.

В настоящее время невозможно назвать конкретное число видов КМ, но нет сомнения, что оно превышает 1000 видов. Проведенными исследованиями подтверждено распространение ксилотрофных макромицетов в Азербайджане [6-7]. По результатам этих исследований можно отметить, что число видов, распространенных в Азербайджане, составляет 212 [8], из которых 130 относятся к КМ с пластинчатыми гименофорами (агарикалы), а 82 - с трубчатymi гименофорами. В качестве продуцентов биологически активных веществ привлечено к исследованиям небольшое количество ксилотрофных макромицетов, зарегистрированных как в мире, так и в Азербайджане. Одним из результатов этих исследований, обращающих на себя внимание, является тот факт, что распространенные в том или ином биотопе КМ различаются по биосинтетической способности, в том числе и по количественным показателям продуцируемой ими биомассы [9-11]. По этой причине велика вероятность того, что штаммы грибов, выделенные из конкретного биотопа, более продуктивны, и проводимые в этом направлении исследования сохраняют свою актуальность.

Подытоживая все выше сказанное, следует отметить, что среди КМ, в том числе с трубчатymi гименофорами, присутствуют и виды из категории съедобных грибов. Численность ксилотрофных макромицетов, культивируемых как в мире, так и в Азербайджане, довольно невелика, и причина заключается в том, что большинство грибов этой категории, могут формировать плодовые тела только в естественных условиях, а их интенсивное культивирование пока не нашло практического решения. С другой стороны, культивирование чистой культуры этих грибов [7] уже является одним из вопросов, находящихся в центре внимания, но в этом аспекте параметры, необходимые для использования КМ в качестве биоресурса, всё еще не получили окончательного определения. Если к сказанному добавить, что проводимые в этом направлении в Азербайджане исследования носили, в основном, эпизодический характер, то можно с уверенностью сказать, что данный вопрос, т.е. определение распространения в Азербайджане видов с трубчатymi гименофорами и их ресурсный потенциал, является одним из самых важных вопросов.

Поэтому целью представленной работы явилось определение съедобных видов ксилотрофных базидиомицетов, распространенных в лесах экологически различных районов Азербайджана, и их ресурсный потенциал по количеству формируемых в естественных условиях плодовых тел.

Образцы для исследования были взяты, в основном, из равнинных и горных лесов, расположенных на территории Гирканского Национального Заповедника, Большого и Малого Кавказа Азербайджанской Республики. Отбор плодовых тел (ПТ) КМ проводился традиционным маршрутным методом [12] и всего было отобрано более 500 образцов. Определение видового состава грибов проводили на основании морфологического описания ПТ и полученных при исследовании данных согласно известным определителям [13].

Частоту встречаемости (ЧВ) грибов в естественных условиях (Р) определяли по следующей формуле:

$$P(\text{экз./га}) = N/S$$

Здесь N – количество плодовых тел конкретного вида, зарегистрированных на выбранном маршруте (экз.), S – площадь выбранного маршрута (га). Для нахождения площади маршрута использовались его ширина (a) и длина (b), выраженные в метрах, то есть $S=ab$.

Для определения вероятного количества плодовых тел, образуемых грибами в естественных условиях, использовали предложенную нами следующую формулу:

$$M = [(X_1+X_2+\dots+X_n)/n] \cdot (SP)$$

Здесь M – масса плодового тела, продуцируемого грибом в естественных условиях (т), а X_1, X_2, \dots, X_n – масса ПТ, продуцируемого грибом в естественных условиях, через 24 часа после взятия (кг), n – число ПТ (n), S – общая площадь изучаемого леса (га), P – частота встречаемости ПТ, определяемая по формуле 1.

В результате анализа образцов, отобранных с участков исследованных лесов за период 2014-2020 гг., выявлено распространение 93 видов ксилотрофных базидиомицетов, 70 из которых были отнесены к афиллофоридным видам КМ. Они характеризуются разнообразием эколого-трофических отношений, окрасок вызываемой в естественных условиях гнили, гифальных систем, распределения на субстратах и др. характеристиками. Так, 7,7 % зарегистрированных грибов являются биотрофами, 7,7 % – сапротрофами, а остальные 84,8 % – грибами, не обладающими истинной сапротрофностью и биотрофностью, т.е. факультативными или политрофами. В естественных условиях 84,6 % грибов вызывают белую гниль и 15,4 % – бурую гниль. Аналогичное разнообразие наблюдается в системах гиф грибов и частоте встречаемости (ЧВ). Так, среди отмеченных грибов в отношении гифальных систем встречаются мономитики (например, *F. nigrescens*), димитики (*T. zonatus*) и тримитики (*Pycnoporus cinnabarinus*). Среди зарегистрированных грибов 5 видов являются доминирующими (1,1-2,7 экз./га), 25 видов – частыми (0,12-0,92 экз./га), остальные 27 видов характеризуются по частоте встречаемости (0,00043-0,09 экз./га) как случайные и редкие виды. Что касается распределения зарегистрированных грибов по субстратам, то было выявлено, что 86,5 % зарегистрированных грибов относятся к эвритрофам, 7,7 % – к условным стенотрофам и 5,8 % – к стенотрофам.

Съедобные грибы, обнаруженные в исследованиях, также оценивались по видовому составу и ресурсному потенциалу. Выявлено, что 6 из 70 зарегистрированных видов (*Fistulina hepatica*, *Ganoderma lucidum*, *Laetiporus sulphureus*, *Polyporus squamosus*, *Polyporus umbellatus*, *P. varius*) относятся к категории съедобных грибов, которые различаются по ЧВ и количеству образуемых плодовых тел. Так, гриб *L. sulphureus* характеризуется самой высокой (ЧВ=0,78 экз./га), а *P.umbellatus* (ЧВ=0,0017 экз./га) и *F.hepatica* (ЧВ=0,000021 экз./га) – наименьшей частотой встречаемости. *G.lucidum* (ЧВ =0,12 экз./га), *Psquamosus* (ЧВ =0,12экз./га) и *P. varius* (ЧВ=0,068 экз./га) занимают промежуточное положение. По этой причине *L.sulphureus* характеризуется как доминантный, *G.lucidum*, *Psquamosus* и *P.varius* – часто встречающиеся, а *P.umbellatus* и *F.hepatica* – случайные и редкие виды.

По результатам 5-ти (с 2014 по 2019 год) ежегодных наблюдений в отношении вероятного запаса образуемых плодовых тел установлено, что в условиях Азербайджана по меньшей мере из 6 грибов может образовываться немногим более 99,1 т. плодовых тел, причем доля разных видов в их формировании различна (таб. 1). Как видно, наибольшую долю составляет гриб *L. sulphureus* и количество образуемых им ПТ составляет 90,8% от общего количества.

Таблица 1.

Вероятное количество ПТ, образуемых в естественных условиях ксилотрофными макромицетами

Виды грибов	Число волн образования ПТ (раз)	Вес образуемых за год ПТ (t)
<i>F.hepatica</i>	1	0,003
<i>G.lusidum</i>	1	0,090
<i>L.sulphureus</i>	2	90,00
<i>P.squamosus</i>	2	8,20
<i>P.umbellátus</i>	1	0,090
<i>P.varius</i>	2	0,72
<i>Всего</i>		99,1

Следует отметить, что это количество может быть чуть меньше или чуть больше, так как ПТ всех указанных грибов являются однолетними и на их формирование влияют природно-климатические условия окружающей среды. Тем не менее, вероятное количество дает, по крайней мере, общее представление о природно-ресурсном потенциале съедобных грибов, что может быть полезно в качестве исходных данных для более эффективного их использования.

Список литературы

1. Wang P.-C., Zhao S., Yang B.Y. et al. Anti-diabetic polysaccharides from natural sources: A review// Carbohydr. Polym., 2016, v.148. p.86–97.
2. You Q., Yin X. & Ji C. Pulsed counter-current ultrasound-assisted extraction and characterization of polysaccharides from *Boletus edulis*//Carbohydr Polym, 2014, v.101, p.379–385
3. Zhang, L. X., Zhang, Y. J. & Zhang, L. P. Extraction and purification of polysaccharide from *Ganoderma lucidum* and its immunological activities.// Journal of Northwest A & F University, 2014, 9, e86216–e86216.
4. Adotey G., Quarcoo A., Holliday J.C. et al. Effect of an immunomodulating and antiviral agent of medicinal mushrooms (immune assist 24/7) on CD4+ T-lymphocyte counts of HIV-infected patients // Int J Med Mushrooms, 2011, v.13(2), p.109-13.
5. Sum, W.Ch., Indieka, S.A. and Matasyoh, J.C. Antimicrobial activity of Basidiomycetes fungi isolated from a Kenyan tropical forest.// African Journal of Biotechnology, 2019, Vol. 18(5), p.112-123
6. Бунятова Л.Н., Гасанова В.Я., Эминова Г.Б. и др. Ксилотрофная микробиота лесных экосистем Азербайджана//Вестник МГОУ, серия «Естественные науки», 2015, №3, -с.20-24
7. Bakhshaliyeva K., Namazov N., Hasanova A. et al. Assessment of the prospects of studying and using mushrooms of Azerbaijan as effective producers of biologically active substances // Periódico tchê química (Brazilia), 2020, v.17, № 34, p.403-411.
8. Akhundova N.A. Orucova S.B., Bahshaliyeva K.F. et al. Evaluation by the Oxidase Activity of Xylotropic Macromycetes Causing White Decay//Advances in Bioscience and Biotechnology, 2019, v.10, p.179-187
9. Мурадов П.З., Алиев И.А., Аббасова Д.М. и др. Изучение морфо-физиологических характеристик некоторых базидиальных грибов, имеющих медицинское значение. // Вестник МГОУ, серия «Естественные науки», 2009, № 2, с.57-60.
10. Muradov P.Z., Garayeva S.C., Naghiyeva S.E. et al. Characteristics by the species compositions and biological activity of Xylomycobiota of some trees included in the flora of Azerbaijan // International Journal of Advanced Research in Biological Sciences, 2018, v.5, is. 8, p.1-4
11. Пучкова Т.А., Капич А. Н., Осадчая О.В. и др. Влияние условий культивирования на образование биологически активных веществ грибами рода *Cordyceps* и их антиоксидантную активность // Труды БГУ, 2013, т. 8, ч.1. с. 246–252.
12. Мухин, В.А. Биота ксилотрофных базидиомицетов Западно-Сибирской равнины. -Екатеринбург, 1993, 231с
13. Бондарцева, М.А. Определитель грибов России. Порядок афиллофоровые. -СП. : Наука, 1998, вып. 2, 391с.

ТЕНДЕНЦИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ЭКСПЛУАТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ЗАГОТАВЛИВАЕМЫХ ВИДОВ ГРИБОВ В БЕЛАРУСИ

Шапорова Я.А.

Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь

Беларусь находится в зоне сопряженности двух крупных геоботанических областей (Евразийской хвойно-лесной (таежной) и Европейской широколиственной). Зональность растительности Беларуси детерминирована климатическими, почвенными и орографическими особенностями ее территории. Лесистость республики близка к оптимальной и составляет 40,1 %, достигла максимального значения за более чем столетний период (1901 год – 37,6 %) и в настоящее время продолжает расти. Преобладающую часть насаждений Беларуси составляют сосновые леса, на долю которых приходится 54,8% лесопокрытой площади, ельники составляют – 11,0%, черноольшанники – 8,2% и березняки – 18,8% соответственно. Значительно меньшую площадь занимают осинники (2,2%). Среди широколиственных лесов основное место принадлежит дубравам (2,9%), их крупные массивы, как правило, приурочены к поймам рек [1].

Существенный ущерб лесному хозяйству страны наносят болезни лесобразующих пород, а также стихийные бедствия, которые стали фиксироваться с большей частотой, особенно в последние пять лет. Данные явления объясняются изменением климата. Так, за последние 20 лет из общей площади погибших древостоев 90,0% погибло именно в результате воздействия неблагоприятных климатических факторов, а в отдельные годы (1992, 2003, 2018) их доля достигала 97,0% [2].

Наше государства придерживается политики рационального лесопользования, что дало возможность по ряду ключевых показателей, характеризующих лесной фонд (лесистость территории, площадь лесов и запас растущей древесины в пересчете на одного жителя), войти Беларуси в первую десятку лесных государств Европы [1]. Порядок сбора грибов в Беларуси регулируется законодательными актами, основной из которых – Лесной кодекс. Так, согласно ст. 44 Лесного кодекса Республики Беларусь граждане имеют право свободно посещать леса и без разрешительных документов бесплатно осуществлять для удовлетворения собственных нужд сбор грибов. Ограничение распространяется на зоны повышенного радиоактивного загрязнения, ООПТ и другие места. Следует обратить внимание, что при осуществлении сбора лесных даров у граждан есть не только права, но и обязанности. Кроме общих правил «соблюдать меры пожарной безопасности», «не мусорить» и т. д., собирать грибы нужно с сохранением грибниц. Грибы нужно срезать ножом на почве у основания гриба или выкручивать. При сборе лисичек важно помнить, что грибов с размером шляпки меньше 1,5 сантиметра в диаметре должно быть не более 5% от собранной массы. Заготовка грибов в промышленных масштабах на территории Беларуси может осуществляться юридическими лицами и индивидуальными предпринимателями и включает перечень из 57 видов (согласно Санитарным нормам и правилам «Санитарно-эпидемиологические требования для организаций, осуществляющих заготовку, переработку и продажу грибов» утвержденных Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь №27 от 12.04.2013 г.).

Нарушение требований по сбору влечет за собой административную ответственность (в соответствии со статьей 15.26 Кодекса Республики Беларусь об административных правонарушениях) и влекут предупреждение или наложение штрафа в размере до двадцати базовых величин, на индивидуального предпринимателя – до ста базовых величин, а на юридическое лицо – до пятисот базовых величин.

Следует отметить тот факт, что сбор и заготовка грибов были всегда прибыльным мероприятием. Согласно данным, приведенным в книгах «Материалы для географии и статистики России, собранные офицерами генерального штаба» (1862–1864 гг.) и «Опыт описания Могилевской губернии» (1882 г.), территории в нынешних границах Беларуси выступали основными поставщиками соленых рыжиков и груздей в столицы Российской империи. С середины XX в. и до катастрофы на Чернобыльской АЭС ассортимент заготавливаемых грибов отличался значительным видовым разнообразием. По данным ЦСУ БССР, в период с 1954 по 1974 гг. максимально зарегистрированный тоннаж сушеных грибов составил 550 т, соленых и маринованных – 8340 т. В 80-х гг. XX в. наблюдался существенный спад заготавливаемой грибной продукции, подобная тенденция сохранялась до середины 1990-х гг. Начиная с 1996 г. и до двухтысячных наблюдалась тенденция к увеличению, то в последние пять – семь лет фиксируются примерно одинаковые объемы заготовки грибов. Основу организованных заготовок в последние пять лет составляют преимущественно четыре наименования: лисичка настоящая (обыкновенная), белый гриб, опенок осенний, груздь черный, остальной видовой потенциал практически не задействован.

С конца 1980-х годов на территории Беларуси начали интенсивно проявляться современные процессы изменения климата. Средняя скорость роста среднегодовой температуры воздуха, начиная с 1989 года, составила 0,4°C/10 лет, что превышает средние значения по земному шару, находящиеся в пределах 0,1–0,3°C/10 лет. Незначительный недобор осадков наблюдается в августе и существенный – в июне и сентябре. Начиная с 2000 г., по территории страны 1–3 раза за 20 лет отмечаются длительные (30 дней и более) периоды, на протяжении которых сумма осадков составляла 0,1 мм и менее. Наиболее часто такие засушливые периоды отмечаются по югу страны (на территории Брестской и Гомельской областей) и характерны для теплого периода года (преимущественно август – октябрь) [3].

Благоприятными для плодоношения грибов являются годы, когда зима «мягкая», с хорошо выраженным снежным покровом, достаточным количеством осадков в мае, и обильными августовскими дождями после сухой жаркой погоды в июле, а осень – теплая, с достаточным количеством осадков, без ранних заморозков. Исходя из выше изложенного следует, что климатический фактор будет определяющим в формировании ресурсного потенциала дикорастущих грибов в Республике Беларусь. С 2010 г. в целом по стране урожайными на грибы были только два года 2012 и 2017. Годы с низким урожаем характеризуются показателями количества выпавших осадков в мае ниже нор-

мы, резкими суточными перепадами температур, ранним наступлением осенних заморозков. Крайне не грибными в Беларуси были годы 2015, 2016, 2019 и по прогнозам 2022 г.

В последние годы стала прослеживаться тенденция к тому, что четко выраженных грибоносных волн (слоев) нет. Свидетельством этому служит 2021 г., когда в целом по стране заготовка лисички началась только во второй декаде августа, причем в отдельных регионах ее урожайность превышала среднестатистическую в 2–5 раз в сравнении с предыдущими годами. Подобное явление отмечалось в 2020 г., когда в июле после значительного похолодания в центральных регионах Беларуси начал массово плодоносить опенок осенний на протяжении 5–7 дней, а в типичные сроки – II–III декада сентября, обилие его плодоношения на тех же пробных площадях составило 0–1 балл.

Таким образом, видим, что суммарный биологический урожай остается в пределах прогнозируемых показателей [4, 5], но эксплуатационный значительно ниже.

По южной части Беларуси отмечается устойчивая тенденция того, что ранние виды грибов, развивающиеся при сумме эффективных температур не менее 500–530 градусов и летние – не менее 780–810, начинают свое плодоношение одновременно с поздними, у которых данный показатель выше 1000. Это приводит к тому, что население собирает только преимущественно представителей, относящиеся к I–II категориям и лисичку настоящую, все остальные виды остаются не востребованными.

В последние пять лет более четкой стала динамика взаимосвязи урожайности определенных видов грибов с конкретной территорией и таким образом, вклад различных видов в суммарный эксплуатационный запас по регионам страны будет неравнозначным.

Степень поражения плодовых тел личинками насекомых наибольшая в первую и вторую волну, а поскольку сроки наступления плодоношения становятся более поздними, то и эксплуатационные запасы увеличиваются. Степень поражения маслят и лисичек в первом – втором слое колеблется в пределах 60–80%, то при более поздних сроках составляет 40–50%, что приводит к их включению в реальный объем заготовок, особенно в пригородных массивах.

В последнее десятилетие особенно возросла нагрузка на пригородные леса и грибоносные массивы расположенные вдоль авто- и железных дорог (это связано с тем, что городское население в Беларуси составляет около 78%, в то время как сельское – 22%; люди стремятся в течение дня посетить лес и вернуться обратно). Здесь практически не осуществляется коммерческая заготовка дикоросов, но масштабы сбора для личных нужд сопоставимы с промышленными.

В таких массивах полностью осваиваются эксплуатационные запасы, уменьшается в разы величина биологического запаса, изменяется видовой состав грибов.

Таким образом, в современных социально-экономических условиях использование ресурсов дикорастущих макромисцетов должно строиться с учетом не только биологического урожая и видового разнообразия, а также с учетом и эксплуатационного запаса, который при расчете должен включать такие показатели как интенсивность плодоношения и сроки, в которые реально происходит извлечение грибной массы.

Список литературы

1. Министерство лесного хозяйства Республики Беларусь. Лесной фонд [Электронный ресурс]. URL: <https://www.mlh.by/our-main-activities/forestry/forests/> (дата обращения: 08.09.2022).
2. Развития Организации Объединенных Наций 2021. Изменение климата – угроза для биоразнообразия экосистем и повод сплотиться #РадиПрироды [Электронный ресурс]. URL: <https://www.by.undp.org/content/belarus/ru/home/presscenter/pressreleases/> дата обращения: 15.09.2021).
3. Белгидромет. Усовершенствование климатической политики в Беларуси. О реализации регионального проекта «ЕС для климата» [Электронный ресурс]. URL: <https://www.belgidromet.by/ru/news-ru/view/> дата обращения: 20.08.2022).
4. Гримашевич, В. В. Климатически детерминированный прогноз ресурсов дикорастущих ягодных растений и съедобных грибов Беларуси на период до 2050 года // Сборник научных трудов [Институт леса НАН Беларуси] / НАН Беларуси, Институт леса. – Гомель, 2009. – Вып. 69: Проблемы лесоведения и лесоводства. – С.753–763.
5. Шапорова Я.А., Гапиенко О.С., Трухановец В.В. Прогнозная оценка биологического урожая основных ресурсообразующих видов грибов на территории ГПУ «Республиканский ландшафтный заказник “Налибокский”» // Биология, систематика и экология грибов и лишайников в природных экосистемах и агрофитоценозах: материалы II Международной научной конференции, г. Минск – д. Каменюки, 20–23 сентября 2016 г. / Национальная академия наук Беларуси, ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси», ГПУ «Национальный парк «Беловежская пуща»»; науч. ред. А.В.Пугачевский [и др.]. – Минск: Колорград, 2016. – С. 277–281.

Научное издание

Современная микология в России

Том 9

Главный редактор
Сергеев А.Ю.

Заместитель главного редактора
Кураков А.В.

Издание
Национальной Академии Микологии

<http://www.mycology.ru>

ISBN 978-5-901578-36-0

Подписано в печать 29.09.2022 Формат 60x90/8
Гарнитура Minion. Печать офсетная.
Усл печ. л. 54,0 Тираж 500 экз.