

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Том 10

**МАТЕРИАЛЫ МЕЖДУНАРОДНОГО
МИКОЛОГИЧЕСКОГО ФОРУМА**

Москва
2024

ББК 28.591
УДК 58-616.5
С56

Главный редактор
Сергеев Ю.В.

Заместитель главного редактора
Кураков А.В.

Редакционная коллегия:

Белозерская Т.А.
Волобуев СВ
Бурова С.А.
Кононенко Г.П.
Гагкаева Т.Ю.
Еланский С.Н.
Псурцева Н.В.
Левитин М.М.
Терещина В.М.

Мухин В.А.
Сергеев А.Ю.
Сидорова И.И.
Ткаченко О.Б.
Тремасов М.Ю.
Толпышева Т.Ю.
Шнырева А.В.
Стогниенко О.И.
Цивилева О.М.

С56 Современная микология в России. – Т. 10. Материалы международного микологического форума.
М.: Национальная академия микологии, 2024. – 350с.

В десятый том сборника «Современная микология в России» вошли труды тринадцати фундаментальных и прикладных секций состоявшегося в 2024 году в Москве Международного микологического форума. Пять выпусков сборника составлены из глав по генетике и физиологии грибов, экологии и биологическому разнообразию, вопросам паразитизма и симбиоза грибов с другими живыми организмами, проблемам лихенологии. Раздел, посвященный сельскохозяйственной микологии, включает главы по фитопатогенным грибам, фунгицидам и биопестицидам, а в биотехнологический раздел, как и ранее, включена глава о культивировании макромицетов. Серия «Современная микология в России» издается с 2002 года и включает материалы Съездов микологов России и Микологических форумов.

ББК 28.591
УДК 58-616.5

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

ISBN 978-5-901578-47-6

© Национальная академия микологии, 2024

ПРЕДИСЛОВИЕ

Грибы – одно из самых разнообразных царств гетеротрофных эукариот, обитающих в наземных и водных экосистемах, включая большинство экстремальных экотопов. Их число, согласно последним оценкам, 2,2 – 3,8 млн. видов, но есть расчеты, которые дают и более высокие значения.

Грибы играют ключевую роль в круговороте питательных веществ в биосфере, могут выступать в качестве сапротрофов, хищников, патогенов, симбионтами с растениями, водорослями, животными и другими организмами.

В последние годы исследования в микологии переживают серьезный подъем, наши знания о разнообразии грибов, роли в биосфере, жизни человека и возможностях их практического применения постоянно углубляются.

Геномная революция привела к кардинальным изменениям в микологии. Появление технологий секвенирования генома и транскриптома позволило изучать практически любую группу грибов, и это нашло отражение в обнаружении в последние годы огромного числа неизвестных ранее видов.

Эта работа успешно продолжается, ежегодно открывают около 2000 видов. Для большинства важных таксонов установлены молекулярные маркеры для видовой и родовой идентификации.

Фундаментально новые данные получены о разнообразии некультивируемых видов грибов и организмах, имеющих признаки примитивных таксонов зооспоровых грибов и протистов. Для изучения разнообразия грибковых сообществ в объектах окружающей среде стали успешно применять высокопроизводительное секвенирование ДНК, экстрагированного из природных образцов.

В идентификации грибов утвердился полифазный подход на основе генотипических, фенотипических, и хемотаксономических признаков. Применение филогенетического распознавания видов на основе мультилокусного секвенирования привело к масштабным пересмотрам классификации многих таксонов.

Большие успехи достигнуты в прикладных областях микологии, выявлении новых фитопатогенов, микоризообразователей и эндофитов, изучении механизмов преодоления устойчивости к антибиотикам патогенов человека и животных, выяснении механизмов устойчивости грибов к стрессовым условиям среды, поиске продуцентов биологически-активных соединений, ферментов для биотехнологий и медицины,

культивировании съедобных видов, применении грибов для создания новых материалов, их роли в биоповреждениях различных строений и изделий.

В материалах 10 тома Международного Микологического Форума Вы можете найти результаты исследований по многим из указанных областей фундаментальных и прикладной микологии. Материалы медицинских и медико-биологических секций Форума, согласно сложившейся традиции, опубликованы в «Успехах медицинской микологии», выходящих уже в 26 раз.

Организационному комитету и редколлегии настоящего сборника особенно приятно отметить работы молодых микологов, достойно продолжающих лучшие традиции отечественных микологических школ и активно заряжающих энергией новые направления исследований грибных организмов.

Без лишней скромности мы можем признать, что микология сегодня является одной из самых динамично развивающихся мультидисциплинарных наук, формирующая единый объектно-ориентированный фундамент и открывающая новые точки роста в фундаментальной биологии, сельском хозяйстве и медицине.

Приветствуя участников Четвертого микологического форума, редакционная коллегия выражает благодарность отечественным микологам и зарубежным коллегам, уделившим должное внимание этому мероприятию и направившим результаты своих научных трудов для публикации в свободном доступе всех микологов России и СНГ.

Принадлежность к профессиональному микологическому сообществу определяет глубокое вдумчивое погружение в проводимые исследования, высокую степень ответственности, постоянный научный поиск и саморазвитие, готовность осваивать новые методы и щедро делиться своими знаниями с новыми поколениями микологов. Пусть ваши вдохновение и энтузиазм не иссякают на этом микологическом пути!

Желаем всем докладчикам, авторам и участникам Форума продуктивной работы, интересных дискуссий, плодотворных контактов, дальнейшей успешной самореализации, новых радостных свершений и микологических открытий!

Кураков А.В., Волобуев С.В., Сергеев Ю.В.

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Current Mycology in Russia

Том 10

Выпуск 1.

**Генетика, морфология
и физиология грибов**

Глава 1.

**Генетика, биохимия
и физиология грибов**

doi: 10.14427/cmr.2024.x.01

Глава 2.

Биология дрожжей

doi: 10.14427/cmr.2024.x.02

Volume 10

Issue 1.

**What's new in fungal
genetics, physiology
and morphology**

Chapter 1.

**Studies in fungal genetics,
biochemistry and physiology**

doi: 10.14427/cmr.2024.x.01

Chapter 2.

Yeast biology

doi: 10.14427/cmr.2024.x.02

Содержание выпуска 1

Глава 1. Генетика, биохимия и физиология грибов

МЕМБРАННЫЕ ЛИПИДЫ КАК АДАПТОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ И ИХ РОЛЬ В ОБРАЗОВАНИИ ФОРМ <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> F.SP. <i>VASINFECTUM</i> , УСТОЙЧИВЫХ К СИСТЕМНЫМ ФУНГИЦИДАМ Агеева И.В., Власова Т.А.	8
БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГРИБОВ РОДА <i>CLONOSTACHYS</i> Албантов Г.П., Чудинова Е.М., Еланский С.Н.	9
ВЛИЯНИЕ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ОКСИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА АКТИВНОСТЬ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ КАТАЛАЗЫ И ПЕРОКСИДАЗЫ <i>ASPERGILLUS NIGER</i> Барышков Р.В., Аникина Н.А., Смирнов В.Ф.	10
МОРФОЛОГО-КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПИГМЕНТООБРАЗУЮЩИХ ШТАММОВ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ АНТРОПОГЕННЫХ ЗОН Г.ТАШКЕНТА Бекмухамедова Н.К., Зайнитдинова Л.И., Мамиев М.С.	12
ВЛИЯНИЕ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СУБМИКРОННЫХ ЧАСТИЦ ОКСИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКСИЛЕНИЕ БЕЛКОВ У <i>ASPERGILLUS NIGER</i> Блинова Е.О., Аникина Н.А., Смирнов В.Ф.	15
ДВЕ СТРАТЕГИИ АДАПТАЦИИ К ВОДНОМУ ДЕФИЦИТУ У КУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ: <i>LENTINUS EDODES</i> (BERC.) И <i>HERICIAM ERINACEUS</i> (PERS.) Богдаев А.Г.	17
ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ С ЧАСТОТАМИ ШУМАНОВСКОГО РЕЗОНАНСА НА НАЧАЛЬНЫЕ СТАДИИ РОСТА <i>TRICHODERMA VIRIDAE</i> Чичерова Д.С., Мишенская Н.С., Сеницына Ю.В.	17
ВЛИЯНИЕ СУБМИКРОННЫХ ЧАСТИЦ ОКСИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СОДЕРЖАНИЕ МЕЛАНИНОВ В МИЦЕЛИИ ГРИБОВ-ДЕСТРУКТОРОВ ПРОМЫШЛЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ Деревянкина Т.А., Шишкин А.Ю., Шишкина К.А., Смирнов В.Ф., Корягин А.В.	18
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ И БИОЛОГИЧЕСКИ РАЗНООБРАЗНЫЙ КОМПЛЕКС ВИДОВ <i>FUSARIUM SOLANI</i> Гагкаева Т.Ю.	19
РОЛЬ ОСМОЛИТОВ И МЕМБРАННЫХ ЛИПИДОВ АЦИДОФИЛЬНОГО БАЗИДИОМИЦЕТА <i>PHLEBIOPSIS GIGANTEA</i> В ОТВЕТЕ НА СТРЕССОРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ Януцевича Е. А., Данилова О. А., Грум О. А. -Гржимайло, Терёшина В. М.	21
РОСТ ВЕГЕТАТИВНОГО МИЦЕЛИЯ <i>MUTINUS ELEGANS</i> НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ РАЗНОГО СОСТАВА Коваленко С.А., Хархасова И.А., Пантелеев С.В.	22
ИЗМЕНЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛЕТОК АСКОМИЦЕТА <i>PODOSPORA ANSERINA</i> В ПРОЦЕССЕ МНОГОЛЕТНЕГО ЭКСПЕРИМЕНТА Кудрявцева О.А., Гаспарян А.А., Агроскин С.М., Белозерский М.А., Дунаевский Я.Е.	24
ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ГРАНИЦ РОСТА ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ВИДОВ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ПНЕВМОМИКОЗОВ Кулько А.Б.	25
ОСОБЕННОСТИ РОСТА МИЦЕЛИЯ ТРАМЕТЕСА РАЗНОЦВЕТНОГО НА РАЗНЫХ ПО СОСТАВУ ТВЕРДЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ Лавлинский А.В.	27
ОПТИМИЗАЦИЯ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ МИКРОМИЦЕТОВ И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СПОСОБОВ ДЛИТЕЛЬНО- ГО ХРАНЕНИЯ ШТАММОВ Лиховидов В.Е., Александрова А.В., Юскевич В.В.	28
ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ КАТЕХОЛ-1,2-ДИОКСИГЕНАЗ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ДОНОРА И ИНГИБИТОРА СИНТЕЗА МОНООКСИДА АЗОТА ПРИ СТРЕССОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ Лощинина Е.А.	30
ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕТЕРОГЕННОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ФОСФОЛИПИДОВ В КУЛЬТУРЕ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА <i>SPARASSIS CRISPA</i> Манжиева Б.С., Сенник С.В., Серебряков Е.Б., Котлова Е.Р.	32
СРАВНЕНИЕ ЛЕКТИНОВОЙ АКТИВНОСТИ ГРИБОВ <i>ASPERGILLUS NIGER</i> F-4815D И F-4816D. ВЛИЯНИЕ НА МОРФОЛО- ГИЮ ЭТИХ ШТАММОВ ОРГАНИЧЕСКОГО КОМПОНЕНТА СРЕДЫ Миндубаев А.З., Клементьев С.В., Кобелев А.В., Минзанова С.Т.	33
РЕВИЗИЯ РОДА <i>ENTOLOMA</i> (<i>ENTOLOMATACEAE</i> , <i>AGARICOMYCETES</i>) РОССИИ В РАМКАХ МЕЖДУНАРОДНОГО ПРОЕКТА ПО ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ ОБОСНОВАННОМУ ПЕРЕСМОТРУ ЕГО ТАКСО- НОМИИ Морозова О.В.	35
РЕВИЗИЯ РОДА <i>ENTOLOMA</i> (<i>ENTOLOMATACEAE</i> , <i>AGARICOMYCETES</i>) РОССИИ В РАМКАХ МЕЖДУНАРОДНОГО ПРОЕКТА ПО ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ ОБОСНОВАННОМУ ПЕРЕСМОТРУ ЕГО ТАКСОНОМИИ Морозова О.В., Ноорделоос М.Е., Дима Б., Брандруд Т.Э., Решке К.	36
РОСТОВЫЕ И АНТАГОНИСТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МИЦЕЛИЯ ГРИБА <i>LAETIPORUS SULPHUREUS</i> (BULL.: FR.) MURR Пучкова Т. А., Максимов А. С., Чжэн Л.	38

ВЛИЯНИЕ СУБМИКРОНЫХ ЧАСТИЦ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СЛОЖНЫХ ОКСИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ГРИБА *ASPERGILLUS NIGER*
Широков Я. Л., Аникина Н. А., Смирнов В. Ф., Корягин А. В 39

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ *GANODERMA APPLANATUM* (*POLYPORALES, BASIDIOMYCOTA*) В МОСКОВСКОМ РЕГИОНЕ
Шнырева А.В., Федорова М.Д..... 41

ХАРАКТЕРИСТИКА МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ПЛЕНОК КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ
Ветчинкина Е.П. 42

ФУНГИЦИД И ЗАЩИТНАЯ ДИСТАНТНАЯ СИГНАЛЬНО-ОПОЗНАВАТЕЛЬНАЯ СИСТЕМА ГРИБА *BIPOLARIS SOROKINIANA*
Воробьев Н.И., Коваленко Н.М., Попова Э.В. 45

ПЕРВЫЕ НАХОДКИ СЕВЕРОАМЕРИКАНСКОЙ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛИНИИ НАСТОЯЩЕГО ТРУТОВИКА В СЕВЕРНОЙ АЗИИ
Жуйкова Е.В., Мухин В.А. 46

Глава 2. Биология дрожжей

ЭКСПРЕСС ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ДРОЖЖЕЙ С ПОМОЩЬЮ БИОСЕНСОРНОГО МЕТОДА
Емельянова Е.В. 48

QUORUM SENSING ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*
Еноктаева О.В., Николенко М.В., Архипова А.А., Барышникова Н.В., Сивкова Д.С..... 50

ОЦЕНКА ФОСФОЛИПАЗНОЙ, ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ И ПРОТЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У ШТАММОВ ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫХ ДРОЖЖЕЙ *CANDIDA PARAPSILOSIS* И *CANDIDA TROPICALIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВЫ НА ТЕРРИТОРИИ ДЕТСКИХ ПЛОЩАДОК В ГОРОДЕ МОСКВЕ
Глушакова А.М., Родионова Е.Н., Качалкин А.В..... 50

ОЦЕНКА ФОСФОЛИПАЗНОЙ, ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ И ПРОТЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У ШТАММОВ ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫХ ДРОЖЖЕЙ *CANDIDA PARAPSILOSIS* И *CANDIDA TROPICALIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВЫ НА ТЕРРИТОРИИ ДЕТСКИХ ПЛОЩАДОК В ГОРОДЕ МОСКВЕ
Глушакова А.М., Родионова Е.Н., Качалкин А.В..... 52

ВНУТРИВИДОВАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ *CANDIDA* ПО ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К МИКОЦИНАМ
Голубев В.И. 55

РАЗНООБРАЗИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ДРОЖЖЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОСИСТЕМ ВОСТОЧНОЙ АНТАРКТИДЫ
Грибанова Е. А., Охремчук Е. В., Семенчукова Е. А., Мямин В.Е..... 55

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ ДРОЖЖЕЙ
Колтовая Н. А..... 58

РОЛЬ ГРИБОВ *CANDIDA ALBICANS* В МЕЖМИКРОБНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ
Лисовская С.А., Сафина Л.Ф., Каюмов А.Р..... 60

ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*
Николенко М.В., Барышникова Н.В., Сивкова Д.С., Еноктаева О.В..... 61

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ КУЛЬТУР РОДА *CANDIDA* ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ
Низомова Д.К., Жураева Р.Н., Зайнитдинова Л.И., Ташпулатов Ж.Ж. 62

ВЭЖХ АНАЛИЗ УТИЛИЗАЦИИ ЛАКТОЗЫ ДРОЖЖАМИ *KLUYVEROMYCES MARXIANUS*, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ
Пономарева А.М., Туаева А.Ю., Наумова Е.С. 63

ИЗУЧЕНИЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ *CANDIDA ALBICANS* В ТЕЧЕНИЕ СУТОК
Сивкова Д.С., Николенко М.В., Шалатонова Е.Е., Барышникова Н.В., Еноктаева О.В..... 65

Глава 1

Генетика, биохимия и физиология грибов

10.14427/cmr.2024.x.01

МЕМБРАННЫЕ ЛИПИДЫ КАК АДАПТОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ И ИХ РОЛЬ В ОБРАЗОВАНИИ ФОРМ *FUSARIUM OXYSPORUM* F.SP. *VASINFECTUM*, УСТОЙЧИВЫХ К СИСТЕМНЫМ ФУНГИЦИДАМ

Агеева И.В., Власова Т.А.

Московский государственный университет

Адаптация микроорганизмов к токсикантам различной этиологии, в том числе к системным ядам, непосредственно связана с перестройкой липидов, как мембранных, так и внеклеточных, выделяемых микроорганизмом в среду культивирования. Исследования липидного обмена у различных патогенных грибов при действии мутагенов, антибиотиков, цитологических ядов показали, что в целом ряде случаев образование устойчивых форм связано с существенными изменениями обмена в сторону интенсификации синтеза таких мембранно-связанных компонентов, как фосфолипиды, стерины, ненасыщенные жирные кислоты.

Адаптивная устойчивость возникает быстрее у тех форм, которые отличаются высоким содержанием суммарных липидов.

В современном сельском хозяйстве используется всё больше химических токсикантов, что приводит к появлению паразитов с более выраженными фитопатогенными свойствами и к возникновению новых устойчивых форм. При этом соотношение сапрофитных и фитопатогенных форм изменяется в сторону преобладания последних.

В частности, в последние годы было отмечено усиление агрессивности *Fusarium* и, как следствие, рост потерь урожаев от фузариозов. Известно, что грибы рода *Fusarium* в конкурентной борьбе за расширение своего ареала и выживание вида продуцируют широкий спектр экзометаболитов – микотоксинов, отравляющих пищу людей и животных, среди которых зеараленон, фонилиформин, фузариевая кислота.

Fusarium oxysporum f.sp. *vasinfectum* – несовершенный гриб, полифаг – является возбудителем ряда болезней растений, в том числе многих сельскохозяйственных культур. В последние годы отмечалось повышение агрессивности *Fusarium* и, как следствие, увеличение потерь от фузариозов.

Синтез микотоксинов у фитопатогенов непосредственно связан с оксипипинами, представляющими собой семейство оксигенированных жирных кислот, весьма разнообразных по строению и функциям. Эти соединения у грибов служат регуляторами развития и воспроизведения, а также выполняют функции коммуникативных молекул как на уровне колоний, так и между видами. Показано действие оксигенированных производных жирных кислот на образование конидий у некоторых грибов. На этом основании липиды рассматриваются как один из факторов приобретённой устойчивости к системным фунгицидам, в частности, к бенлейту, широко применяемому в сельском хозяйстве.

В связи с этим представляло интерес изучение действия липидов как адаптогенных факторов.

Объектом исследования служил патогенный штамм гриба *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* W.C.Snyder

и H.N.Hansen, характеризующийся высокой морфологической стабильностью и на протяжении 5 лет сохранявший исходный уровень вирулентности.

В опытах использовали конидиальную культуру гриба *F. oxysporum*. Фунгицид бенлейт применяли в концентрации 0,05 мг/мл, ингибирующей рост культуры гриба, но не подавляющей его окончательно, и в более высокой концентрации 0,5 мг/мл.

Данный штамм обнаружил низкую чувствительность к бенлейту в концентрации 0,05 мг/мл,

Анализ состава внутриклеточных мембранных липидов показал наличие следующих фракций: фосфолипиды-моноглицериды, стерины, триглицериды, эфиры стерина и свободные жирные кислоты

Было установлено, что высокая устойчивость исследуемого штамма *F.vasinfectum* стабильно проявлявшего патогенные свойства, сопровождалась значительными изменениями метаболизма липидов, направленными на стабилизацию мембранного комплекса клетки.

В 3-суточной культуре *F. oxysporum* не происходило видимых морфологических изменений клеток, однако размеры их были меньше, чем в контрольной культуре. Делящихся клеток и ядер не наблюдали.

На 7-е сутки культивирования в клетках гриба обнаруживали значительное уменьшение размеров липидных включений по сравнению с контролем. На среде с бенлейтом резко снижалось отношение содержания липидов к сухому весу клеток гриба по сравнению с контролем.

Происходили изменения всех классов мембранных липидов. Высокую чувствительность к токсиканту проявил биосинтез фосфолипидов. Происходило его резкое снижение в начале экспоненциальной фазы роста и значительное повышение, более чем в контроле, в конце этой фазы и в целом сверхсинтез этих соединений. Синтез мембранных жирных кислот находился в обратной зависимости от синтеза фосфолипидов.

Наблюдаемые изменения рассматривали как развитие некоторых компенсаторных процессов, направленных на выживание культуры в стрессовых условиях.

Лишь при повышении концентрации бенлейта до 0,5 мг/мл происходило подавление роста конидиальной культуры в течение 3 суток. Электронно-микроскопическое изучение выявило разбухание клеток и искажение их формы. Клеточные ядра деградировали вплоть до разрушения. Многие митохондрии разбухали. В клетках накапливались многочисленные липидные включения, по-видимому, вследствие деструктивных процессов в мембранах с последующим высвобождением липидов и выпадением их в виде капель. Эти изменения носили необратимый характер и завершались гибелью культуры.

Результаты показывают, что бенлейт, как липофильное соединение, способен реагировать с липидами клеточных мембран гриба. Летальные дозы препарата вызывают необратимые изменения и гибель культуры.

Пониженная доза фунгицида вызывает развитие адаптаций и способствует возникновению устойчивых форм фитопатогена. В концентрации, ингибирующей размножение гриба, бенлейт стимулирует биосинтез фосфолипидов и стерина. По нашему мнению, эти из-

менения являются важными условиями для приобретения устойчивости фитопатогена к бенлейту за счёт конформационной перестройки мембран. Из этого следует также, что подбирать дозы фунгицида следует очень тщательно. Следует учитывать, что применение слишком высоких доз фунгицида приводит к накоплению его в почве и водоёмах, отравляя их.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГРИБОВ РОДА *CLONOSTACHYS*

Албантов Г.П.¹, Чудинова Е.М.¹, Еланский С.Н.^{1,2}

¹ Российский университет дружбы народов, Москва

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Грибы рода *Clonostachys* – сапротрофные почвенные аскомицеты, обладающие микопаразитическими и антагонистическими свойствами в отношении множества патогенов, атакующих растения [1]. Некоторые виды этого рода, например *C. rosea*, используют в качестве средства биологической защиты от фитопатогенных грибов, поражающих сельскохозяйственные культуры [2]. *Clonostachys* стимулирует активацию защитных механизмов у растений [3]. Штаммы микроорганизмов, используемых в качестве агентов биоконтроля, могут различаться по эффективности подавления фитопатогенов, восприимчивости к химическим средствам защиты растений, фитопатогенности.

В настоящей работе изучены штаммы *Clonostachys* sp., выделенные из растительных остатков и почвы разных стран, с целью определения их видовой принадлежности, патогенности в отношении клубней картофеля и антагонистического воздействия на грибы-патогены картофеля. Одной из целей проводимой работы был отбор штаммов, перспективных для использования в качестве агентов биоконтроля.

Штаммы были выделены из растительных остатков, почвы, клубней картофеля и плодов томата в разных регионах России и Вьетнама в период с 2017 по 2023 год. Для оценки видовой принадлежности использовали определение по морфологии с использованием специальной литературы [4] и по последовательностям ДНК ITS1-5,8S-ITS2 (праймеры ITS1 и ITS4), части генов большой субъединицы рибосомальной РНК (LSU) (LROR и LR5) и *tef1* (EF-1 и EF-2) [5,6,7]. Нарращивание мицелия и выделение ДНК штаммов проводили по протоколу, описанному в [8].

Для анализа патогенности использовали ломтики чистых и поверхностно стерилизованных клубней картофеля, помещенные в чашку Петри с влажной фильтровальной бумагой. На поверхность ломтика помещали агаровый блок с мицелием гриба. В контрольных образцах на ломтики клубней наносили стерильный агаровый блок. Инокулированные ломтики инкубировали в термостате при 15°C в течение 14 суток.

Тестирование на устойчивость к фунгицидам проводили в лабораторных условиях в чашках Петри с питательной средой КГА, в которую добавляли фунгициды в концентрациях по действующему веществу 0,1; 1; 10; 100 мг/л. В качестве контроля использовали среду без фунгицида. В качестве изучаемых фунгицидов были выбраны тиабендазол (препарат Имикар) и дифеноконазол (Скор). В препарат Имикар, кроме тиабендазола,

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 EC_{50} (концентрация фунгицида, уменьшающая радиальный диаметр колонии гриба на 50 % относительно бесфунгицидного контроля).

Для оценки перспектив использования разных штаммов *Clonostachys* в качестве агентов биоконтроля оценивали их антагонистическую активность методом попарного сращивания на питательной среде с культурами патогенов картофеля: *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum coccodes*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. sporotrichioides*. Оценивали зону ингибирования роста между штаммами и зону распространения мицелия *Clonostachys* по колонии тестируемого фитопатогена.

Всего было изучено 40 штаммов *Clonostachys* spp. Видовая принадлежность молекулярными методами определена у 17 штаммов, из них 8 штаммов определены как *C. rosea* и 9 – как *C. solani*.

Оценка патогенности к картофелю проведена на 40 штаммах: 8 с почвы, 15 с растительных остатков, 15 с листа картофеля, 1 с яблоки и 1 с томата. Диаметры поражения на 14 день инкубации составляли 1-5 мм. Зоны лизиса диаметром 1-2 мм были видны даже на контроле, что, по-видимому, вызвано жизнедеятельностью неспецифической залетной микробиоты. Таким образом, анализ показал отсутствие патогенности (или очень слабую патогенность) исследованных штаммов даже в отношении незащищенной ткани клубня.

Анализ восприимчивости к фунгицидам 17 штаммов показал, что все были чувствительны к дифеноконазолу ($EC_{50} < 0,4$ мг/л). К тиабендазолу устойчивость не была такой однозначной, показатель EC_{50} варьировал от 0,4 до 7,5 мг/л.

Анализ антагонистической активности штаммов проводили на штаммах фитопатогенных грибов *R. solani*, *C. coccodes*, *S. sclerotiorum*. 23 штамма также тестировали и на штаммах рода *Fusarium*: *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. sporotrichioides*. Попарное сращивание с изолятами *S. sclerotiorum*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *R. solani* и *F. sporotrichioides* показало у всех тестируемых штаммов антагонистическую активность, выражающуюся в ингибиро-

вании роста колоний и образовании зоны, свободной от роста. Некоторые штаммы *Clonostachys* после срастания колоний росли поверх *C. coccodes*, *F. solani*, *F. oxysporum* и *R. solani*. Все 23 проанализированных штамма имели зону барража при тестировании с *F. sporotrichioides*. Исследованные штаммы *Clonostachys* различались по антагонистической активности.

В ходе исследования были выбраны штаммы, проявляющие высокую активность в борьбе с фитопатогенными грибами и безвредные для картофеля, что делает их обещающими кандидатами для применения в качестве агентов биоконтроля.

Исследование выполнено при поддержке Российского Научного Фонда (грант 23-16-00048).

Список литературы

1. Sutton J.C., Li D.W., Peng G., Yu H., Zhang P., Valdebenito-Sanhueza R.M. 1997. 'Gliocladium Roseum: A Versatile Adversary of Botrytis Cinerea in Crops'. *Plant Disease* 81 (4): 316–28. DOI: 10.1094/PDIS.1997.81.4.316.
2. Rodríguez M.A., Cabrera G., Gozzo F.C., Eberlin M.N., Godeas A. 2011. 'Clonostachys Rosea BAFC3874 as a Sclerotinia Sclerotiorum Antagonist: Mechanisms Involved and Potential as a Biocontrol Agent'. *Journal of Applied Microbiology* 110 (5): 1177–86. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2011.04970.x.
3. Roberta R., Veronesi A.R., Cesari A., Cascone A., Berardino I.D., Bertini L., and Caruso C. 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. DOI: 10.1016/j.plantsci.2008.05.003.

4. Schroers H.J. 2001. 'A Monograph of Bionectria (Ascomycota, Hypocreales, Bionectriaceae) and Its Clonostachys Anamorphs'. *Studies in Mycology*, no. 46: 215.
5. White T.J., T. Bruns T., Lee S., Taylor J. 1990. 'Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics'. In *PCR Protocols*, 315–22. DOI: 10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1.
6. Vilgalys R., and Hester M. 1990. 'Rapid Genetic Identification and Mapping of Enzymatically Amplified Ribosomal DNA from Several Cryptococcus Species'. *Journal of Bacteriology* 172 (8): 4238–46. DOI: 10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990.
7. O'Donnell K., Kistler H.C., Cigelnik E., Plötz R.C. 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. DOI: 10.1073/pnas.95.5.2044.
8. Kutuzova I. A., L.Yu Kokaeva, M.A. Pobendinskaya, Yu.A. Krutyakov, E.S. Skolotneva, E.M. Chudinova, Elansky S.N.. 2017. 'Resistance of Helminthosporium Solani Strains to Selected Fungicides Applied for Tuber Treatment'. *Journal of Plant Pathology* 99 (3): 635–42. DOI: 10.4454/jpp.v99i3.3950.
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

ВЛИЯНИЕ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ОКСИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА АКТИВНОСТЬ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ КАТАЛАЗЫ И ПЕРОКСИДАЗЫ *ASPERGILLUS NIGER*

Барышков Р.В., Аникина Н.А., Смирнов В.Ф

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

На данный момент интенсивно исследуются антимикробные свойства различных оксидов металлов, обладающих фотокаталитической активностью, которые в процессе фотолиза образуют активные формы кислорода (АФК). Многие оксиды металлов способны проявлять фотокаталитические свойства в УФ-свете. При этом доля УФ-излучения в составе естественного света на Земле сильно меньше, чем видимого света. Это значительно снижает эффективность данных оксидов. В связи с этим в НИИ Химии ННГУ им. Н.И. Лобачевского разработаны сложные оксиды, фотокаталитический эффект которых проявляется в условиях видимого света.

Микроскопические грибы способны использовать в качестве источника питания самые разнообразные субстраты, как природного, так и синтетического происхождения (строительные и промышленные материалы и изделия из них). Для трансформации этих субстратов грибы способны выделять широкий спектр различных ферментов. Примером ферментов, участвующих в процессах биodeградации различных материалов, являются экзокаталаза и экзопероксидаза. Их деятельность сопряжена с наличием в среде такой АФК как пероксид водорода.

Известно, что некоторые биоцидные вещества, в том числе и оксиды тяжелых металлов, способны ингибировать активность оксидоредуктаз. При этом механизмы ингибирующего действия разнообразны. Это может быть связано с действием соединения на активный центр фермента или его структуру (за счет связывания с различными функциональными группами), синтеза фермента *de novo* (связано с нарушениями экс-

прессии генов, отвечающих за синтез энзимов), а также нарушением транспорта фермента в экстрацеллюлярное пространство.

Таким образом, поиск биоцидов, которые способны ингибировать данные ферменты является весьма актуальной задачей.

Цель работы: исследование влияния субмикронных частиц сложных оксидов: $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и $CsTeMoO_6$, на активность экзокаталазы и экзопероксидазы *Aspergillus niger* в условиях темноты и действия света.

Объект исследования: *Aspergillus niger* van Tieghen VKMF-1119. Используемые вещества: $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и $CsTeMoO_6$ со средним размером частиц 300 нм. Образцы оксидов металлов синтезировали и предоставили сотрудники НИИ Химии ННГУ.

Были поставлены следующие варианты эксперимента: рост гриба на среде Чапека-Докса без введения исследуемых соединений, рост гриба с $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ или $CsTeMoO_6$ в темноте или на свету. Концентрация $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и $CsTeMoO_6$ составляла 2 мг/мл. Источник света – светодиодные прожекторы JAZZWAY PFL-C3 мощностью 50 Вт (плотность потока излучения 524 Вт/м²). Часть колб подвергалась действию света, а часть выдерживалась в темноте. Культивирование проводилось в течение 7 суток на шейкерах при температуре 25 ± 2 °C, скорость – 120 об/мин. Затем отбирали равные аликвоты культуральной жидкости из каждой колбы и центрифугировали со скоростью 10300g в течение 10 минут. Надосадочную жидкость использовали для спектофотометрического определения активности исследуемых ферментов: каталазы – по убыли H_2O_2 ($\lambda=240$ нм), пероксидазы – по окислению п-фенилендиамина в

присутствии H_2O_2 ($\lambda=535$ нм). Результаты измерений выражались в условных единицах (у.е.). За единицу активности принималась убыль (для каталазы) и прибыль (для пероксидазы) оптической плотности в 1 мл реакционной смеси за 1 минуту, в пересчете на 1 мг общего белка.

На первых этапах наших экспериментов контрольные образцы (без введения микрочастиц) культивировались как в темноте, так и в условиях действия света. Было показано, что прирост биомассы и активность вышеуказанных энзимов не зависели от условий выращивания. В связи с этим далее контрольные варианты культивировались в условиях темноты.

Сравнивая активности ферментов между собой у контрольной группы, можно сказать, что активность экзоката­лазы, выше чем у экзопероксидазы. Показано значительное снижение активности внеклеточной каталазы у исследуемого штамма *A. niger* при введении в культуральную жидкость $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (рис. 1) и, напротив, продемонстрировано значительное повышение активности данного фермента при введении CsTeMoO_6 . При этом более сильный эффект CsTeMoO_6 наблюдался при действии света (рис. 2).

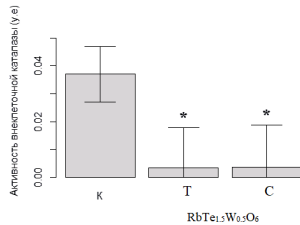


Рис. 1. Влияние $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ на активность внеклеточной каталазы в культуральной жидкости *A. niger* (Т – темнота, С – свет)

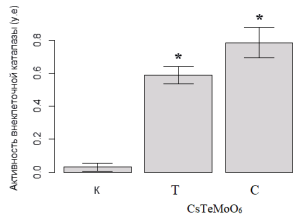


Рис. 2. Влияние CsTeMoO_6 на активность внеклеточной каталазы в культуральной жидкости *A. niger* (Т – темнота, С – свет)

В случае внеклеточной пероксидазы введение в культуральную жидкость $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ не повлияло на активность данного фермента (рис. 3), и, напротив, введение CsTeMoO_6 вызвало повышение активности данного фермента, причем на свету эффект данного оксида повышался (рис. 4).

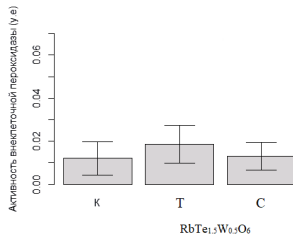


Рис. 3. Влияние $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ на активность внеклеточной пероксидазы в культуральной жидкости *A. niger* (Т – темнота, С – свет)

Значительное снижение активности внеклеточной каталазы *A. niger* при введении $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ может быть вызвано различными механизмами. Так, свободные ка-

тионы тяжелых металлов, освобождающиеся из оксида, могли нарушать в целом метаболизм клетки, в том числе оказывая негативное влияние на функционирование генетического аппарата и экспрессию различных белков, необходимы для синтеза, транспорта данного фермента. Кроме того, биоцидный эффект непосредственно самих частиц, связанный с их электростатическим взаимодействием с поверхностью клетки, мог приводить к деструкции барьеров клетки, в частности клеточной стенки и цитоплазматической мембраны.

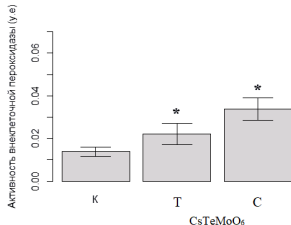


Рис. 4. Влияние CsTeMoO_6 на активность внеклеточной пероксидазы в культуральной жидкости *A. niger* (Т – темнота, С – свет)

Значительное снижение активности внеклеточной каталазы *A. niger* при введении $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ может быть вызвано различными механизмами. Так, свободные катионы тяжелых металлов, освобождающиеся из оксида, могли нарушать в целом метаболизм клетки, в том числе оказывая негативное влияние на функционирование генетического аппарата и экспрессию различных белков, необходимы для синтеза, транспорта данного фермента. Кроме того, биоцидный эффект непосредственно самих частиц, связанный с их электростатическим взаимодействием с поверхностью клетки, мог приводить к деструкции барьеров клетки, в частности клеточной стенки и цитоплазматической мембраны.

Повышение активности обоих ферментов при добавлении CsTeMoO_6 может быть связано со стимулирующим эффектом на их экспрессию, чему могла послужить индукция экспрессии пероксид-продуцирующих ферментов, например, супероксиддисмутазы, которая превращает образующийся при фотокатализе супероксидный радикал в перекись водорода, который и служит субстратом для экзоката­лазы. Кроме того, это может быть связано с изменением транспорта данных энзимов из клетки за счет мембранотропного эффекта у исследуемого соединения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (базовая часть госзадания, проект FSWR-2023-2024). Для проведения исследований использовано оборудование Центра коллективного пользования «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ННГУ им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород).

Список литературы

1. Raj N.B., PavithraGowda N.T., Pooja O.S. et al. Harnessing ZnO nanoparticles for antimicrobial and photocatalytic activities . Journal of Photochemistry and Photobiology. 2021. V. 6. Article 100021.

2. Смирнов В.Ф., Стручкова И.В., Смирнова О.Н., Аникина Н.А. Физиолого-биохимические основы микробной деградации промышленных материалов: учебное пособие. Нижний Новгород: ННГУ, 2021. С.50-72.

3. Srikanth M., Sandeep T.S., Sucharitha K., Godi S. Biodegradation of plastic polymers by fungi: a brief review . Bioresources and Bioprocessing. 2022. V. 9. P. 1-10.

4. Chovanová K., Kamlárová A., Maresch D., Harichová J., Zámocký M. Expression of extracellular peroxidases and catalases in mesophilic and thermophilic *Chaetomium* in response to environmental oxidative stress stimuli. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019. V. 181. P. 481-490.
5. Касатова Е.С., Стручкова И.В., Аникина Н.А. и др. Действие слабого низкочастотного электромагнитного поля на активность экстрацеллюлярных оксидоредуктаз *Trichoderma virens*. *Микология и фитопатология*. 2017. Т. 51. С. 99-103.
6. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочники биохимика Перевод с англ. М.: Мир, 1991. 544 с.
7. Li Y., Schellhorn H.E. Rapid Kinetic Microassay for Catalase Activity. *J Biomol Tech*. 2007. V. 18. P. 185-187.

8. Nagaraja P., Shivakumar A., Shrestha A.K. Development and Evaluation of Kinetic Spectrophotometric Assays for Horseradish Peroxidase by Catalytic Coupling of Paraphenylenediamine and Mequinol. *Analytical Sciences*. 2009. V. 25. P. 1243-1248.
9. Juan AC., Lastra JMPDL., Plou F.J., Pérez-Lebeña E. The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *IJMS*. 2021. V. 22. P. 21.
10. Okeke I.S., Agwu K.K., Ubachukwu A.A., Ezema F.I. Influence of transition metal doping on physiochemical and antibacterial properties of ZnO-Nanoparticles: A review. *Applied Surface Science Advances*. 2022. V. 8. P. 12.

МОРФОЛОГО-КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПИГМЕНТООБРАЗУЮЩИХ ШТАММОВ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ АНТРОПОГЕННЫХ ЗОН Г.ТАШКЕНТА

Бекмухамедова Н.К., Зайнитдинова Л.И., Мамиев М.С.
Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент

Богатой палитрой красок живая природа обязана пигментам. В почве, воздухе, морях, океанах, на растениях, разнообразных естественных и искусственных материалах широко распространены пигментированные виды микроорганизмов, которые по яркости и разнообразию окраски не уступают растениям и животным.

В загрязненных почвах обычно обитает большое количество микроорганизмов, способных к образованию различных пигментов.

На сегодняшний день микроорганизмы являются выгодным источником получения пигментов в промышленном масштабе, т.к. они не требуют таких затрат, как посевные площади и длительность выращивания. Помимо этого, микроорганизмы отличаются несравненно более высокой устойчивостью и чрезвычайным разнообразием синтезируемых пигментов, что обуславливает все возрастающий интерес к исследованию пигментобразующей способности микроорганизмов [1,2].

Микробные пигменты, в отличие от органических пигментов, относят к экологически безопасным и биodeградируемым соединениям, в связи с чем, получение различных пигментов с помощью высокоактивных штаммов микроорганизмов-продуцентов, является серьезной альтернативой химическому синтезу [3,4].

Микроскопические грибы образуют многочисленные и разнообразные вторичные метаболиты, в том числе пигменты различной окраски, которые могут быть использованы как альтернатива применяемым в промышленности химическим и растительным красителям. Одним из перспективных классов грибных пигментов являются азафилоновые соединения, впервые обнаруженные у грибов родов *Monascus*, *Talaromyces* и *Aspergillus cavernicola*. Приведены краткие сведения об антимикробной, противоопухолевой, противовоспалительной и гиполипидемической активностях азафилоновых пигментов [5].

Микроскопические грибы образуют меланины, которые являются важным фактором защиты от неблаго-

приятных воздействий внешней среды - УФ-излучения, высушивания, замораживания, высоких концентраций солей, тяжелых металлов и радионуклидов. Присутствие меланинов позволяет грибам существовать в условиях повышенной электромагнитной радиации, например в высокогорных районах, пустынных почвах, а также на поверхности растений. В экстремальных условиях, как правило, увеличивается доля меланизированных грибов в микобиоте, например в экотопах, загрязненных радионуклидами. В воздушной среде меланиносодержащих спор грибов больше, чем в почве. Экспериментально показано, что темноокрашенные споры многих грибов устойчивы к УФ-облучению. Наличие меланиновых пигментов обеспечивает спорам высокий процент выживания при жестком УФ-облучении, в то время как непигментированные формы полностью погибают в течение нескольких минут [6].

В настоящее время пигментобразующие микроорганизмы широко используются в промышленной микробиологии и в различных отраслях промышленности. Они являются экономически и биотехнологически потенциальными продуцентами многих природных красителей и пигментов, используемых в основном в пищевой и фармацевтической промышленности. Микробные пигменты представляют большой интерес, учитывая стабильность полученных пигментов, доступность и простоту методов культивирования и экстракции.

Исходя из вышеизложенного, целью нашего исследования являлось выделение, изучение некоторых свойств и определение родовой принадлежности пигментобразующих микроскопических грибов, обитающих в различных антропогенных зонах г. Ташкента.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследований служили местные штаммы микроскопических грибов, выделенные из антропо-

генных зон г. Ташкента. Всего было выделено в чистую культуру 9 штаммов грибов, образующих различные пигменты.

Для выделения и изучения микроскопических грибов использовали питательную среду Чапека, г/л: NaNO_3 – 2; KH_2PO_4 – 1; MgSO_4 – 0,5; KCl – 0,5; FeSO_4 – следы, сахара – 20, вода водопроводная – 1 л; pH 6,8-7,0 [7]. Посев производили методом разведений почвенных образцов на питательный агар [8]. Определение продуцирования растворимого пигмента микроорганизмов проводили на питательной среде Чапека.

С целью идентификации активных культур микроорганизмов изучены их морфологические свойства, которые позволили установить систематическое положение изученных микроорганизмов [9]. Родовую принадлежность культур устанавливали по определителю микроскопических грибов [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Из антропогенных зон г. Ташкента выделено в чистую культуру 9 пигментообразующих микромицетов (рис.1).

Полученные результаты исследований показали, что наиболее активное пигментообразование в процессе обследования почв выявлено у микроорганизмов, выделенных из образцов почв, находящихся при повышенной инсоляции.

В результате проведенных исследований отобраны 5 штаммов микроскопических грибов, наиболее интенсивно образующих растворимые пигменты, окрашивающие питательную среду Чапека (рис.2), которые детально изучались их морфологические свойства и определена их родовая принадлежность.



Рис. 1. Пигментообразующие микромицеты

Морфология микроскопического гриба №1. Мицелий ползучий, распространяющийся по субстрату, ветвящийся, темноокрашенный. Конидиеносцы простые, разветвленные, несущие на вершине основного ствола и боковых ветвей мутовки фиалид. Фиалиды цилиндрические слегка темноокрашенные, собранные большей частью в мутовку, сросшиеся у основания, несущие одиночные или скученные в головки конидии. Конидии возникают на фиалидах. На каждой фиалиде по 3-7 и более конидий, которые скучены в головку на пучке фиалид. Конидии шаровидные, черные, гладкие. Колония черная, бархатистая. Гифы ползучие, ветвящиеся, слабо септированные, вначале бледно-оливковые, позже оливково-бурые. По совокупности изученных морфологи-

ческих свойств микроскопический штамм №1 к роду *Stachybotrys*.

Морфология микроскопического гриба №4. Конидиальные головки от орехового и оливкового до бурого цвета, радиальные, с однослойными стеригмами. Ножка конидиеносца гладкая. Конидии большей частью бугорчатые от поверхностного отложения пигмента. Колонии серые, ореховые, оливковые и до бурого цвета. Конидии шаровидные слегка эллиптические, гладкие, 2,2x2,5 μ или 3 μ в диаметре. Колонии клочковатые или бархатистые, бурые. Обратная сторона палевая, желтая и до темнубурого цвета. По совокупности изученных морфологических свойств микроскопический штамм №4 к роду *Aspergillus*.

Морфология микроскопического гриба №5. Мицелий красного цвета, постепенно темнеет до буроватого. Конидиеносцы разветвленные, выражены в меньшей степени. Микроконидии имеют грушевидную форму. Образуются в мицелии одиночно конидиеносцах. Хламидоспоры – образуются в гифах, одиночные, в форме цепочек. Склероции – тесное скопление гиф роговидной консистенции. По совокупности изученных морфологических свойств микроскопический штамм №5 к роду *Fusarium*.

Морфология микроскопического гриба №9. Нитчатый гриб, имеет специализированные гифы, называемые конидиеносцы, на которых развивались конидиогенные клетки, которые образовали бесполое споры гриба. конидиеносцы с конидиальными головками в компактных колонках, субглобозными везикулами шириной 12-20 $\mu\text{м}$. Стойка гиалиновая и может варьироваться по длине от 100-250 $\mu\text{м}$. Конидиеносец состоит из трех хорошо дифференцированных структур; везикула, ножка и клетка стопы, которые соединяются с остальными гифами. Конидиогенные клетки, называемые фиалидами, гладкие, шаровидные имеют размеры 2-2,5 $\mu\text{м}$. По совокупности изученных морфологических свойств микроскопический штамм №9 к роду *Aspergillus*.

Морфология микроскопического гриба №10. Мицелий окрашенный на темно розовый до фиолетового цвета. Конидиеносцы септированные, прямостоящие, берущие начало от гиф субстратного или воздушного мицелия без посредства особых опорных толстостенных клеток, в верхней части несколько мутовчато разветвленные цепочки конидий. Конидии одноклеточные, круглые. По совокупности изученных морфологических свойств микроскопический штамм №10 к роду *Penicillium*

Таким образом, в результате обследования антропогенных почв выделены в чистую культуру и охарактеризованы 5 перспективных в отношении получения пигментов микроскопических грибов.

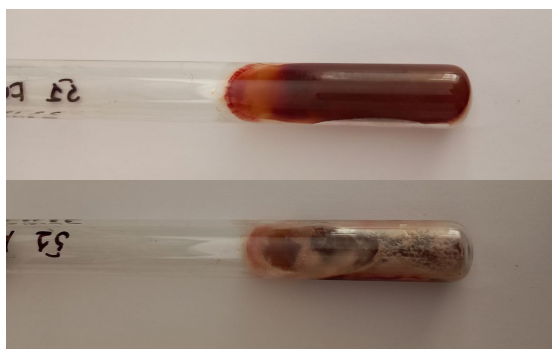
Натуральные красители, производимые микроорганизмами, являются микробиологическими метаболитами и они наиболее уникальны среди всех натуральных красителей, поскольку кроме их безопасности для организма человека, они устойчивы к различным факторам внешней среды. Использование данных штаммов для получения красителей имеет большие перспективы.



Stachybotrys sp. 1



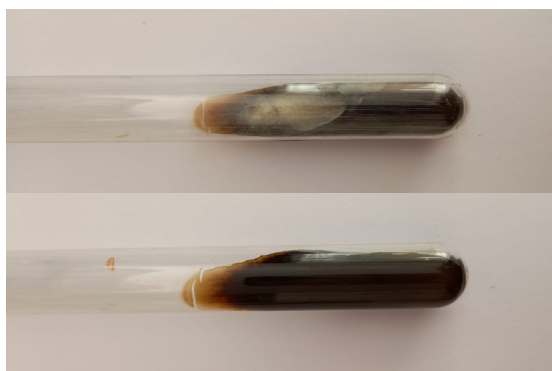
Aspergillus sp. 4



Fusarium sp. 5



Aspergillus sp. 9



Penicillium sp. 10

Рис. 2. Образование растворимых пигментов микроскопических грибов на среде Чапека

ВЛИЯНИЕ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СУБМИКРОННЫХ ЧАСТИЦ ОКСИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКСИЛЕНИЕ БЕЛКОВ У *ASPERGILLUS NIGER*

Блинова Е.О., Аникина Н.А., Смирнов В.Ф.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

Одним из перспективных направлений использования фотокалитически активных оксидов тяжелых металлов является создание нового класса биоцидных препаратов с низкой токсичностью и уменьшенной экологической нагрузкой на окружающую среду [1]. При поглощении света оксиды тяжелых металлов способны генерировать активные формы кислорода (АФК) за счет образования электронно-дырочных пар, что увеличивает антимикробный эффект данных соединений. Известно, что простые оксиды металлов, такие как TiO_2 , ZnO и другие, фотокалитически активны только в УФ-диапазоне или близкой к УФ-области видимого света и требуют отдельный источник излучения на длине волны поглощения, что накладывает определенные ограничения на их применение как антимикробных агентов [2]. В связи с этим немало научных исследований в последние годы посвящено поиску соединений, спектральная область действия которых смещена из ультрафиолетового диапазона в видимый.

Образующиеся в ходе фотокатализа АФК и другие свободные радикалы способны окислять различные органические соединения, в том числе и белки. Окислительная модификация белков (ОМБ) приводит к изменению их нативной конформации, вызывая инактивацию ферментов, нарушая метаболизм, структуру и функционирование клеток. Это позволяет рассматривать ОМБ как одним из ранних и наиболее надежных индикаторов окислительного стресса, протекающего в живой клетке.

Целью работы являлось исследование влияния фотокалитически активных субмикронных частиц оксида вольфрама WO_3 и сложных оксидов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 на ОМБ в клетках гриба *Aspergillus niger*, активного деструктора различных промышленных материалов, в условиях действия света и в темноте. Объектом изучения выступал *Aspergillus niger* van Tieghen ВКМФ-1119, полученный из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ИБФМ РАН, Пущино). В качестве оксидов тяжелых металлов были использованы оксид вольфрама (WO_3) и синтезированные в НИИ Химии ННГУ сложные оксиды $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 со средним размером частиц 700 нм. Источник света – светодиодные прожекторы JAZZWAY PFL-C3 мощностью 50 Вт (плотность потока излучения 524 Вт/м²).

Для проведения эксперимента мицелий гриба был выращен в колбе Эрленмейера на жидкой питательной среде Чапека-Докса в течение 7–10 суток на качалках. После этого мицелий был отфильтрован, и равные навески мицелия были помещены в колбы со свежей питательной средой. На контрольную группу не было никакого воздействия, в то время как в опытные группы добавлялись микроразмерные частицы оксида в концентрации 2 мг/мл (часть из них подвергались воздействию света; другие – находились в темноте). Культивирование грибов проводилось на шейкерах в колбах при температуре $27 \pm 2^\circ \text{C}$ в течение 7 суток.

Для оценки ОМБ использовали метод определения уровня карбонильных производных по R.L. Levine в модификации Е.Е. Дубининой. Метод основан на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов. Регистрацию карбонильных производных проводили параллельно в двух вариантах: оценка спонтанной окислительной модификации белков: реакция с 2,4-динитрофенилгидразином в нативной пробе биологического материала, и оценка металл-катализируемой окислительной модификации белков, осуществляемой после предварительной обработки исследуемого материала компонентами индуцирующей реакции Фентона смеси. Карбонильные производные окисленных белков регистрировались спектрофотометрически: альдегид-динитрофенилгидразоны нейтрального характера (АДНФГнх) и кетон-динитрофенилгидразоны нейтрального характера (КДНФГнх) при длинах волн 356 и 370 нм соответственно, а альдегид-динитрофенилгидразоны основного характера (АДНФГох) и кетон-динитрофенилгидразоны основного характера (КДНФГох) при 430 и 530 нм, соответственно. Известно, что на ранних стадиях окислительного стресса преобладают такие первичные маркеры как АДНФГ, а на поздних стадиях – вторичные маркеры – КДНФГ. Преобладание среди продуктов ОМБ АДНФГ свидетельствует о фрагментации белковых молекул, а вторичных – о переходе первичных маркеров окислительного стресса во вторичные и об интенсивной реализации прямого механизма окислительного стресса, о запуске процесса агрегации при накоплении поврежденных белков.

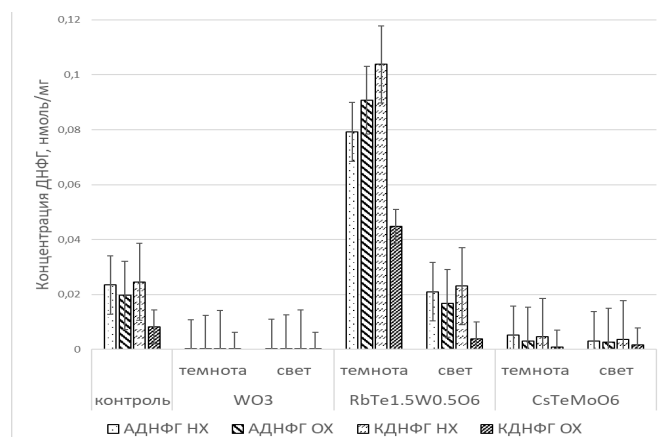


Рис. 1. Характеристика спонтанной ОМБ гриба *A. niger* при культивировании с различными частицами оксидов тяжелых металлов

Показано (рис. 1), что в норме (контроль) имеет место спонтанное окисление белков данного микромицета, представленное наличием всех окисленных модификаций основных и нейтральных групп. При действии субмикронных частиц WO_3 как в условиях света, так и темноты имело место полное подавление модификационных изменений у белков. Возможно это связано с тем, что WO_3 и на свету, и в темноте способен подавлять

определенные ферментативные системы, участвующие в процессах окисления белков *A. niger*. Практически аналогичная картина наблюдалась в условиях света и темноты для препарата CsTeMoO_6 (здесь чуть в меньшей степени выражено снижение окислительной модификации). Иная картина наблюдалась для препарата $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$, где имело место резкое увеличение по сравнению с контролем всех групп ОМБ. При чем в наибольшей степени наблюдалась степени наблюдалась увеличение кетоновых групп у основных белков и альдегидных групп у нейтральных белков, что позволяет предположить о наличии существенной фрагментации и агрегации белковых молекул данного гриба в присутствии препарата $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$. Действие света существенно уменьшало процесс ОМБ и приводило его практически на уровень контроля. Можно предположить, что это связано с тем, что при действии света происходит образование определенных метаболитов, препятствующих работе ферментативных систем, осуществляющих существенное окисление белков, например, за счет АФК.

Спонтанная ОМБ характеризует количество уже окисленных белков, индуцированная (металл-катализируемая) ОМБ указывает на количество субстрата для окисления и возможность его вовлечения в эти процессы, что позволяет рассматривать его как показатель устойчивости системы к пероксидации. Соотношение показателей спонтанной ОМБ и металл-зависимой, принимаемой за 100%, позволяет оценить резервно-адаптационный потенциал организма [6].

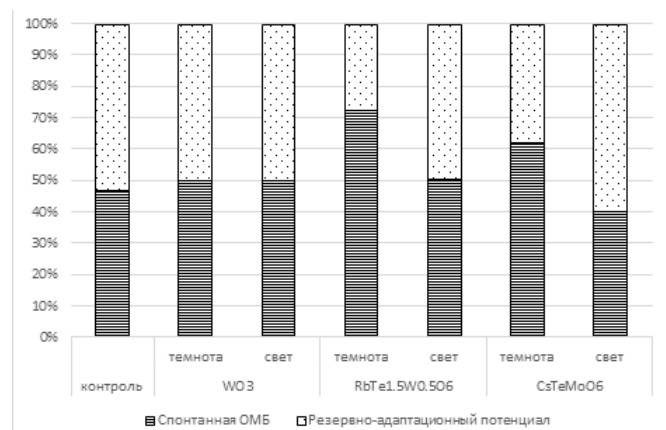


Рис. 2. Резервно-адаптационный потенциал гриба *A. niger*, выращенного на среде с оксидами тяжелых металлов относительно контроля

Согласно анализу результатов, представленных на рис. 2, в присутствии частиц оксидов тяжелых металлов резервно-адаптационный потенциал гриба *A. niger* снижался относительно контроля как в условиях света, так и в условиях темноты. При чем случае $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 в условиях воздействия света резервно-адаптационный потенциал снижался по сравнению с ними же в условиях темноты.

Следует обратить, что под действием ряда биоцидных соединений имело место не увеличение, а снижение активности ОМБ. Это также необходимо учитывать: при недостаточной концентрации биоцида, не приводящей к полной гибели грибов-деструкторов, могут остаться наиболее устойчивые штаммы и стимулировать их устойчивость.

Согласно результатам исследований соединения WO_3 , $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 , обладающие фотокаталитической активностью, усиливают противогриб-

ковый эффект и пролонгируют их действие в условиях освещенности. Данный факт может иметь большое практическое значение, так как эти соединения могут быть использованы не только в качестве биоцидов в различных отраслях промышленности, медицине, ветеринарии, но и в качестве дезинфекционных средств различных технологических сред и оборудования.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (базовая часть госзадания, проект FSWR-2023-2024). Для проведения исследований использовано оборудование Центра коллективного пользования «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ННГУ им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород).

Список литературы

1. Yamamoto O. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide . Int. J. Inorg. Mater. 2001. V.3. P.643.
2. Thabet S., Simonet F., Lemaire M. et al. Impact of Photocatalysis on Fungal Cells: Depiction of Cellular and Molecular Effects on *Saccharomyces cerevisiae* . Appl. Environ. Microbiol. 203. V.80. P.642.
3. Захарова О.В., А. А. Гусев. Фотокаталитически активные микрочастицы оксида цинка и диоксида титана в клональном микроразмножении растений: перспективы . Российские нанотехнологии. 2019. Т.3, Вып.9-10. С.3-6.
4. Isoda R., Matsushita. The role of protein oxidative modification in periodontal diseases . New York-springer. 203. P.15-32.
5. Gallego M., Mora L. Evidence of peptide oxidation from major myofibrillar proteins in dry-cured ham . Food Chemistry. 2015. №187. P.230-235.
6. Абаленихина Ю.В. Окислительная модификация белков и лизосомальный цистеиновый протеолиз иммунокомпетентных органов крыс в условиях модулирования синтеза оксида азота: дис. канд. биол. наук: 03.01.04 / Рязань, 2015. 32с.

ДВЕ СТРАТЕГИИ АДАПТАЦИИ К ВОДНОМУ ДЕФИЦИТУ У КУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ: *LENTINUS EDODES* (BERC.) И *HERICIUM ERINACEUS* (PERS.)

Богдаев А.Г.

Воронежский государственный университет

Изучаемые виды базидиомицетов представляют интерес как модельные объекты изучения морфофизиологических процессов адаптации к условиям длительного снижения относительной влажности воздуха (RH%). В ходе наблюдений отмечено, что диапазоны оптимума RH фаз плодообразования и спороношения у этих видов различны, что объясняется радикальными различиями как морфологического строения, так и физиологией водного обмена. При длительном снижении RH (от 3 суток и более) поверхность субстратного агрегата *L. edodes*, имеющая кожистое покрытие, с характерной пигментацией может претерпевать необратимые повреждения. Это приводит к резкому возрастанию влагопотери в грибных тканях и угрозе гибели всего мицелиального агрегата. В качестве ответной реакции на влагопотерю – во внутренней зоне субстратного агрегата формируется барьер из нового кожистого покрова, обеспечивающего многофункциональную защиту ми-

целиальных тканей, расположенных в участке субстрата ещё сохраняющего достаточный ресурс воды.

Мицелиальный агрегат в толще погибших тканей обладает всеми биологическими функциями.

Радикально отличается стратегия выживания в условиях снижения RH у *H. erinaceus*. В силу морфологических отличий плодовых тел (отсутствие шляпки), базидиомы обеспечиваются питанием благодаря интенсивному водному транспорту из внутренних участков субстратного агрегата к поверхностным тканям. Как следствие может наблюдаться ситуация, когда поверхностные мицелиальные ткани сохраняют спектр жизненных функций, а внутренние участки погибли или находятся в условиях острого водного стресса. Это подтверждается сохранением функций вегетативного размножения преимущественно у мицелиальных тканей, взятых с поверхности субстратного агрегата *H. erinaceus*.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ С ЧАСТОТАМИ ШУМАНОВСКОГО РЕЗОНАНСА НА НАЧАЛЬНЫЕ СТАДИИ РОСТА *TRICHODERMA VIRIDAE*

Чичерова Д.С., Мшенская Н.С., Синицына Ю.В.
ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

Микроскопические грибы в начальный период онтогенеза чувствительны к воздействию разнообразных внешних факторов, в том числе, низкочастотных магнитных полей. Так, выявлено изменение скорости прорастания спор, роста мицелия, начала спороношения при воздействии магнитных полей с частотами ниже 50 Гц на широкий спектр микромицетов (Albertini et al., 2003; Nagy, Fischl, 2004; Быстрова и др., 2009). Однако, фрагментарность и противоречивость имеющихся на сегодняшний день данных не позволяет сформировать целостное представление о механизмах влияния магнитного поля на рост и развитие микромицетов. Резонанс Шумана – это явление образования стоячих магнитных волн в пространстве между поверхностью Земли и ионосферой, индуцируемое грозовыми разрядами молний. Магнитные поля Шумановского диапазона имеют низкую величину магнитной индукции, лежащую в пико- и нанотесловом диапазоне, и частотную характеристику трёх первых гармоник – около 8 Гц, 14 Гц и 21 Гц. Поскольку возникновение и эволюция живых объектов протекала неотрывно от действия естественных магнитных полей Шумановского диапазона, можно предположить возможность их восприятия микромицетами. Целью настоящего исследования явилось изучение эффектов магнитных полей с частотами первых трёх гармоник резонанса Шумана (7,8 Гц, 14,3 Гц, 20,8 Гц) на начальные ростовые процессы микромицета *Trichoderma viridae*.

Культивирование микромицета вели на агаризованной питательной среде Чапека-Докса. Полная питательная среда (ППС) содержала сахарозу в концентрации 20 г/л, обедненная питательная среда (ОПС) – 2 г/л (ГОСТ 9.048-89 ЕСЗКС).

Для создания магнитного поля были использованы установки, состоявшие из соосно ориентированных колец Гельмгольца, подключенных к генератору Rigol DG1062Z. Индукция магнитного поля составляла 18 мкТл, исследуемые частоты – 7,8 Гц, 14,3 Гц, 20,8 Гц. В заданных магнитных полях микромицеты находились в течение всего времени культивирования. Продолжительность культивирования колоний – до 12 суток. Контрольные варианты выращивали в аналогичных установках, не подключенных к генератору сигналов. Все исследования проводились в помещении с климат-контролем при температуре +24°C и затемнении. Регистрировали время и количество проросших спор, скорость роста колоний микромицетов, морфологию гиф мицелия. Изображения спор и мицелия получали с помощью микроскопа MeijiTechno 4200. Обработку изображений проводили с помощью программы ImageJ. Исследование прорастания спор проводили в миникамерах, состоявших из стеклянных колец Ван-Тигема (Ø 15мм) и плотно притертых покровных стекол, с нанесенным на стекла тонким слоем твердой полной питательной среды. Миникамеры располагали непосредственно на столике микроскопа для непрерывного наблюдения за прорастающими спорами и фотофиксации. Регистрацию прорастания спор вели каждый час после посева в течение 24 часов методом светлопольной микроскопии при увеличении 200х.

Показано, что на среде ППС в контрольном варианте (без воздействия искусственного магнитного поля) прорастание спор начиналось через 7 часов после посева, 50%-прорастание наблюдалось через 9 часов, а полное прорастание через 13 часов. Магнитные поля с частотами 7,8 Гц и 14,3 Гц вызывали более интенсивное

прорастание спор - 70-80% через 9 часов после посева, полное прорастание через 11 часов. Напротив, в магнитном поле с частотой 20,8 Гц прорастания спор микромицета было замедленным в течение всего времени регистрации по сравнению с контролем. Радиальная скорость роста колоний (на чашках Петри) в опытных и контрольных вариантах, в среднем, составила около 29 ± 2 мм/сут и статистически не различалась. Как в опытных, так и в контрольном вариантах появление первых конидиеносцев было обнаружено на третьи сутки культивирования, однако на 12-е сутки визуально было видно более выраженное развитие спороносного мицелия в опытных вариантах по сравнению с контрольным.

В серии экспериментов с культивированием *T. viridae* на обедненной питательной среде не выявлено влияния магнитных полей на радиальную скорость роста колоний, но были обнаружены изменения морфологии колоний. Мицелий, выращенный в магнитном поле частотой 7,8 Гц, характеризовался наличием большого количества загнутых и кольцеобразных гиф, в то время как в контрольном образце и более высокочастотных полях большинство гиф были практически прямыми. Начало спороношения колоний, выращенных на ОПС приходилось на 4 день и не различалось в опытных и контрольных вариантах.

В целом, исследованные магнитные поля с частотами, близкими к диапазону первых трех гармоник резонанса Шумана оказывали активирующее воздействие на рост гриба *Trichoderma viridae* на разных фазах роста. Наблюдавшиеся изменения благоприятны для роста гриба и его размножения, что в природе может способствовать более быстрому расселению микромицета, особенно в оптимальных по питанию условиях. Среди всех исследованных полей наибольший модифицирующий эффект был характерен для поля с самой низкой частотой 7,8 Гц, совпадающей с первой гармоникой резонанса Шумана.

Список литературы

1. Albertini M. C., Accorsi A., Citterio B., Burattini S., Piacentini M. P., Ugucioni F., Piatti E. Morphological and biochemical modifications induced by a static magnetic field on *Fusarium culmorum* / *Biochimie*. 2003. Vol. 85, N 10. P. 963—970.
2. Nagy P., Fischl G. Effect of static magnetic field on growth and sporulation of some plant pathogenic fungi / *Bioelectromagnetics*. 2004. Vol. 25, N 4. P. 316—318.
3. Быстрова Е.Ю., Богомолова Е.В., Гаврилов Ю.М., Панина Л. К., Стефанов В.Е., Сурма С.В., Щеголев Б.Ф. Влияние постоянного магнитного и экранированного геомагнитного полей на развитие колоний микромицетов // *Микология и фитопатология*. 2009. Т. 43. - № 5. С. 438–446.

ВЛИЯНИЕ СУБМИКРОННЫХ ЧАСТИЦ ОКСИДОВ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СОДЕРЖАНИЕ МЕЛАНИНОВ В МИЦЕЛИИ ГРИБОВ-ДЕСТРУКТОРОВ ПРОМЫШЛЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ

Деревянкина Т.А., Шишкин А.Ю., Шишкина К.А., Смирнов В.Ф., Корягин А.В.
ННГУ имени Н.И. Лобачевского

Среди микроорганизмов микроскопические грибы являются самыми активными биодеструкторами промышленных материалов. Благодаря особенностям метаболизма и своим адаптационным способностям грибы способны приспосабливаться к самым экстремальным условиям окружающей среды. Например, грибы способны синтезировать меланины — темноокрашенные пигменты, выполняющие защитную функцию от воздействия различных химических, механических и физических факторов [1]. Они обладают антиоксидантными свойствами, принимают участие в фотозащите, сборе энергии и терморегуляции [2]. Меланин откладывается в клеточных стенках и увеличивает их прочность и жесткость. Меланизация клеточных стенок изменяет их проницаемость и защищает от химической деградации и токсичных веществ, поступающих из окружающей среде [3].

Из-за высокой жизнеспособности и приспособляемости микромицетов, постоянно ведётся поиск новых и более эффективных фунгицидов. Одними из таких перспективных фунгицидов могут стать наноразмерные и субмикронные частицы оксидов тяжелых металлов. Антимикробные свойства таких оксидов зависят от ряда факторов: размера и формы частиц, концентрации и т.д. [4]. Интересным эффектом обладают фотокаталитически активные простые и сложные оксиды тяжелых металлов, которые при воздействии светового излучения способны образовывать активные формы кислорода (АФК) и за счет этого, их антимикробная активность усиливается. Действие таких оксидов тяжелых металлов приводит к разрушению клеточной стенки и мембраны, увеличению их проницаемости, ингибированию фер-

ментов, нарушению структур биомолекул клетки и др. [4, 5].

В НИИ Химии ННГУ имени Н.И. Лобачевского, г. Н. Новгород в первые были получены субмикронные частицы сложных оксидов тяжелых металлов, обладающих фотокаталитической активностью $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 . Было установлено, что они проявляют антимикробную активность относительно спор и вегетативного мицелия микроскопических грибов, которая усиливается в условиях воздействия светового излучения [6].

В связи с тем, что влияние данных субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов на микроскопические грибы малоизучены, то для разработки эффективных способов и средств защиты промышленных материалов от биоповреждений с помощью этих соединений, весьма актуальными являются исследования их действия на метаболизм микромицетов – деструкторов промышленных материалов.

Объекты исследования: штаммы грибов, активных деструкторов промышленных материалов *Penicillium cyclopium* F-245 и *Chaetomium globosum* F-109 (ВКМ, г. Пущино, Россия).

Материалы и методы: субмикронные частицы WO_3 , $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 , со средним размером частиц 674, 736 и 670 нм, соответственно. Грибы культивировали на неагаризованной питательной среде Чапека-Докса 23 сут. Концентрация оксидов составляла 1 мг/мл. Контроль оксидов не содержал. Выделение меланина из гомогенизированного мицелия проводилась методом щелочной экстракции в 1М КОН с последующем автоклавированием при 1 АТМ, 121°C, в течение 20 мин.

Меланин осаждали закислением среды концентрированной HCl. Осадок меланина отфильтровывали, промывали и сушили в термостате при 40°C 4 часа. Для идентификации выделенного пигмента проводили качественные реакции и УФ-спектроскопию.

Результаты эксперимента показали, что в ответ на внесение субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов в среду культивирования в мицелии грибов *P. cyclopium* и *C. globosum* происходило накопление меланина (табл. 1).

Табл. 1. Влияние субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов WO₃, RbTe_{1,5}W_{0,5}O₆ и CsTeMoO₆ на содержание меланина в мицелии грибов *Penicilium cyclopium* и *Chaetomium globosum* на 23 сутки культивирования в г/л питательной среды.

Условия культивирования	<i>P. cyclopium</i>	<i>C. globosum</i>
Контроль (без оксидов)	0,094 ± 0,041	0,0144 ± 0,065
WO ₃	0,396 ± 0,054	1,256 ± 0,193
RbTe _{1,5} W _{0,5} O ₆	3,482 ± 0,3	0,716 ± 0,196
CsTeMoO ₆	1,424 ± 0,1	0,079 ± 0,019

Таким образом, результаты исследования показали, что в ответ на воздействие субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов WO₃, RbTe_{1,5}W_{0,5}O₆ и CsTeMoO₆ в мицелии грибов *Penicilium cyclopium* и *Chaetomium globosum* происходит значительное увеличение содержания меланина.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (базовая часть госзадания, проект FSWR-2023–0024). Для проведения исследований использовано оборудование Центра коллективного пользования «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ННГУ им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород).

Список литературы

1. Кукулянская Т.А. Структурно-функциональные особенности меланиновых пигментов некоторых микро- и макромицетов: автореф. дисс. на соиск. уч. степени канд. биол. наук. Минск, 2001. 21 с.

2. Noura A.E., Wesam I.A. Natural Melanin: Current Trends, and Future Approaches, with Especial Reference to Microbial Source . Polymers. 2022. №14, 1339. C. 28.

3. Garcia-Rivera J., Casadevall A. Melanization of Cryptococcus neoformans reduces its susceptibility to the antimicrobial effects of silver nitrate. . Med Mycol. 2001. V. 39. P. 353-357.

4. Zakharova, O.V., Gusev, A.A. Photocatalytically Active Zinc Oxide and Titanium Dioxide Nanoparticles in Clonal Micropropagation of Plants: Prospects. Nanotechnol Russia 14. 2019, 311-324 p.

5. Yael N. S., Horacio B. Mechanisms of Antifungal Properties of Metal Nanoparticles . Nanomaterials. 2022. №24, T. 12. P.

6. Smirnov V.F., Smirnova O.N., Shishkin A.Yu., Anikina N.A., Fukina D.G., Koryagin A.V., Suleimanov E.V. Effect of Light on the Antifungal Activity of Submicron Particles Based on Tungsten Oxide . Nanotechnologies in Russia. № 3. V. 17. 2022. P. 444-456.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ И БИОЛОГИЧЕСКИ РАЗНООБРАЗНЫЙ КОМПЛЕКС
ВИДОВ FUSARIUM SOLANI

Гагкаева Т.Ю.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

Гриб *Fusarium solani* впервые был описан как *Fusisporium solani* Mart. (1842) – возбудитель сухой гнили картофеля в Германии, а в дальнейшем итальянский ученый Р. А. Saccardo отнёс его к роду *Fusarium* как *F. solani* (Mart.) Sacc. (1881).

В современной филогенетической систематике [1, 2] род *Fusarium* представлен 23 комплексами видов, среди которых комплекс видов *F. solani* (FSSC) представляет один из наиболее многочисленных и экономически значимых групп. Данные грибы встречаются повсеместно, в том числе в экстремальных условиях обитания, например, в Чернобыле [3].

Грибы FSSC – распространенные сапротрофы, эндофиты и патогены растений. Они встречаются на широком спектре травянистых и древесных растений, в том числе, ряда важных для сельского хозяйства культур. У инфицированных растений наблюдаются симптомы увядания и хлороза, задержка роста, поражение стеблей.

Кроме того, *F. solani* s.lat. выделяют из насекомых, и все чаще они ассоциируются с оппортунистическими инфекциями людей и животных, вызывая системные инфекции с высокой смертностью, а также локальные инфекции кожи и других частей тела [4, 5].

Всемирная организация здравоохранения [6] опубликовала список приоритетных грибных патогенов человека и среди 19 выделенных групп организмов отмечены грибы рода *Fusarium*, которые вызывают инвазионные заболевания, главным образом органов

дыхания и глаз (кератит), а также способны вызывать фунгемию вследствие образования многочисленных спор. По данным WHO при инвазивном фузариозе смертность пациентов колебалась от 43% до 67% и была особенно высокой при инфекциях, часто связанных с представителями комплекса видов *F. solani*.

Японский и американский исследователи Т. Matuo и W.C. Snyder были первыми доказавшими, что *F. solani* представляет собой комплекс видов, а не отдельный таксон [7]. Посредством экспериментов по скрещиванию штаммов они смогли продемонстрировать существование семи биологически изолированных линий, названных спаривающимися популяциями (Mating Population I-VII) и соотнесли их со специализированными формами – *F. solani* ff. spp. Однако к данным биологическим видам могли быть отнесены только гетероталлические штаммы, вместе с тем известно, что у *F. solani* s.lat. встречаются как гетероталлические, так и гомоталлические штаммы.

В дальнейшем была подтверждена генеалогическая исключительность данных семи биологических видов и большинства, но не всех специализированных форм. Так, например, установлено, что f. sp. *cucurbitae* и f. sp. *phaseoli* являются полифилетическими, включающими по два филогенетических вида, а f. sp. *glycines* включает 4 филогенетических вида [8, 9, 10, 11]. Анализ агрессивности штаммов *F. solani* f. sp. *pisi* различного происхождения показал значительный разброс признака, в

результате чего возникли сомнения в правомерности использования ранга *forma specialis* для *F. solani* s.lat. [12].

Мультилокусный анализ филогенетических отношений выявил значительную вариабельность представителей FSSC, но анализированные виды группировались в три крупных клады, названные кладами FSSC 1, 2 и 3 [8, 5, 13, 14, 15, 16].

Клада FSSC 1 состоит из двух видов *Fusarium illudens* и *Nectria plagianthi* из Новой Зеландии.

Клада FSSC 2 включает ряд важных патогенов, в том числе, вызывающих синдром внезапной гибели сои и гниль корней фасоли – *F. phaseoli*, *F. virguliforme*, *F. tucumaniae*, *F. brasiliense* и другие виды, ранее относящиеся к *F. solani* f. sp. *glycine*.

Клада FSSC 3 наиболее обширная, включает виды, выделенные из растений, людей и насекомых. В том числе, клада 3 включает не менее 19 генеалогически исключительных линий видов клады Ambrosia (*Ambrosia Fusarium* clada), мутуалистически связанных с жуками *Euwallacea ambrosia*.

Клинические изоляты FSSC имеют идентичные мультилокусные гаплотипы с изолятами, полученными из растений, животных и из больничных помещений и, по меньшей мере, представляют 18 филогенетически различных вида, среди которых наиболее значимые *F. keratoplasticum*, *F. petroliphilum*, *F. falciforme* [17]. Не выявлено достоверных различий по патогенности между изолятами грибов FSSC, выделенными из растений, тканей пациентов, сточных вод и больничной среды при инокуляции как растений, так и тканей человека [18, 19, 20].

Поддерживая монофилетическую концепцию *Fusarium*, включающую грибы FSSC [1, 2, 21] можно утверждать, что в настоящее время существует более 100 филогенетических видов в FSSC и некоторые виды ещё не имеют латинских биномов [22].

На сайте Генбанка (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Fusarium+solani>) приведены полногеномные сиквенсы 12 штаммов FSSC, размер геномов варьирует от 48,70 до 66,64 Мб (доступ март, 2024). Число основных хромосом у грибов в комплексе видов *F. solani* варьирует значительно (n = 9–17) и дополнительно часто присутствуют 1-3 минихромосомы.

У грибов FSSC отсутствует ген Tri5, ответственный за инициацию биосинтеза трихотеценовых микотоксинов [23]. Вся информация по образованию трихотеценовых микотоксинов или зеараленона, грибами комплекса FSSC является недостоверной и не подтверждена исследованиями с использованием генотипированных штаммов. Грибы FSSC образуют нафтазарины (фузарубин, бострикоидин, изомартицин, новарубин и др.), фузариевую кислоту, монилиформин, фузаланипирон [24].

Исследование выполнено при поддержке РНФ (№ проекта 23-26-00105).

Список литературы

- Geiser D.M., Al-Hatmi A.M.S., Aoki T., et al. Phylogenomic analysis of a 55.1 kb 19-gene dataset resolves a monophyletic *Fusarium* that includes the *Fusarium solani* species complex. *Phytopathol*, 2021. 111: 1064–1079. DOI: 10.1094/PHYTO-08-20-0330-LE
- Geiser D.M., Aoki T., Bacon C.W., et al. One fungus, one name: defining the genus *Fusarium* in a scientifically robust way that preserves longstanding use. *Phytopathol*, 2013. 103: 400–408. DOI: 10.1094/PHYTO-07-12-0150-LE

- Zhdanova N.N., Zakharchenko V.A., Vember V.V., Nakonechnaya L.T. Fungi from Chernobyl: mycobiota of the inner regions of the containment structures of the damaged nuclear reactor. *Mycol Res*, 2000. 104: 1421–1426. DOI: 10.1017/S0953756200002756
- Naiker S., Odhav B. Mycotic keratitis: profile of *Fusarium* species and their mycotoxins. *Mycoses*, 2004. 47: 50–56. DOI: 10.1046/j.0933-7407.2003.00936.x.
- O'Donnell K., Sutton D.A., Fothergill A., et al. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. *J Clin Microbiol*, 2008. 46: 2477–2490. DOI: 10.1128/JCM.02371-07
- World Health Organization (WHO) fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. 2022. 48 p. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>
- Matuo T., Snyder W.C. Use of morphology and mating populations in the identification of special forms in *Fusarium solani*. *Phytopathol*, 1973. 63: 562–565.
- O'Donnell K. Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca-Fusarium solani* species complex. *Mycologia*, 2000. 92: 919–938. DOI: 10.1080/00275514.2000.12061237
- Aoki T., O'Donnell K., Homma Y., Lattanzi A.R. Sudden-death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species within the *Fusarium solani* species complex—*F. virguliforme* in North America and *F. tucumaniae* in South America. *Mycologia*, 2003. 95: 660–684.
- Aoki T., O'Donnell K., Scandiani M.M. Sudden death syndrome of soybean in South America is caused by four species of *Fusarium*: *Fusarium brasiliense* sp. nov., *F. cuneirostrum* sp. nov., *F. tucumaniae*, and *F. virguliforme*. *Mycosci*. 2005; 46: 162–183. DOI: 10.1007/S10267-005-0235-Y
- Covert S.F., Aoki T., O'Donnell K., et al. Sexual reproduction in the soybean sudden death syndrome pathogen *Fusarium tucumaniae*. *Fungal Genet Biol*, 2007. 44: 799–807. DOI: 10.1016/j.fgb.2006.12.009
- Šišić A., Baćanović-Šišić J., Al-Hatmi A.M.S. et al. The 'forma specialis' issue in *Fusarium*: a case study in *Fusarium solani* f.sp. *pisi*. *Sci Rep*, 2018. 8, 1252 DOI: 10.1038/s41598-018-19779-z
- Chehri K., Salleh B., Zakaria L. Morphological and phylogenetic analysis of *Fusarium solani* species complex in Malaysia. *Microb Ecol*, 2015. 69: 457–471. DOI: 10.1007/s00248-014-0494-2
- Nalim F.A., Samuels G.J., Wijesundera R.L., Geiser D.M. New species from the *Fusarium solani* species complex derived from perithecia and soil in the Old World tropics. *Mycologia*, 2011. 103: 1302–1330. DOI: 10.3852/10-307
- Short D.P.G., O'Donnell K., Thrane U., et al. Phylogenetic relationships among members of the *Fusarium solani* species complex in human infections and the descriptions of *F. keratoplasticum* sp. nov. and *F. petroliphilum* stat. nov. *Fun Genet Biol*, 2013. 53: 59–70. DOI: 10.1016/j.fgb.2013.01.004
- Aoki T., Liyanage P.N.H., Konkol J.L., et al. Three novel *Ambrosia Fusarium* Clade species producing multiseptate “dolphin-shaped” conidia, and an augmented description of *Fusarium kuroshium*. *Mycologia*, 2021. 113: 1089–1109. DOI: 10.1080/00275514.2021.1923300
- Wang J., Sang H., Jacobs J.L., Oudman K.A., Hanson L.E., Chilvers M.I. (2019) Soybean sudden death syndrome causal agent *Fusarium brasiliense* present in Michigan. *Plant Dis*, 2019. 103: 1234–1243. DOI: 10.1094/PDIS-08-18-1332-RE
- Zhang N., O'Donnell K., Sutton D.A., et al. Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infections in both humans and plants are common in the environment. *J Clin Microbiol*, 2006. 44: 2186–2190. DOI: 10.1128/JCM.00120-06
- Mehl H.L., Epstein L. *Fusarium solani* species complex isolates conspecific with *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 2 from naturally infected human and plant tissue and environmental sources

are equally virulent on plants, grow at 37 °C and are interfertile. Environ. Microbiol, 2007. 9: 2189–2199. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2007.01333.x

20. González V., García-Martínez S., Flores-León A., et al. Neocosmospora keratoplastica, a relevant human fusarial pathogen is found to be associated with wilt and root rot of muskmelon and watermelon crops in Spain: epidemiological and molecular evidences. Eur J Plant Pathol, 2020. 156: 1189–1196. DOI: 10.1007/s10658-020-01931-z

21. Meza-Menchaca T., Singh R.K., Quiroz-Chávez J., et al. First demonstration of clinical Fusarium strains causing cross-kingdom infections from humans to plants. Microorganisms, 2020. 8: 947. DOI: 10.3390/microorganisms8060947

22. Гагкаева Т.Ю. Проблема таксономической очерченности видов грибов рода *Fusarium*. Новое в систематике и номенкла-

туре грибов (второе издание). М.: «Национальная академия микологии», 2024 (в печати).

23. O'Donnell K., Whitaker B.K., Laraba I., et al. (2022) DNA sequence-based identification of *Fusarium*: a work in progress. Plant Dis, 2022. 106: 1597–1609. DOI: 10.1094/PDIS-09-21-2035-SR

24. O'Donnell K., Rooney A.P., Proctor R.H., et al. Phylogenetic analyses of RPB1 and RPB2 support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important *Fusaria*. Fun Genet Biol, 2013. 52: 20–31. DOI: 10.1016/j.fgb.2012.12.004

25. Coleman J.J. The *Fusarium solani* species complex: ubiquitous pathogens of agricultural importance. Mol Plant Pathol, 2016. 17:146–158. DOI: 10.1111/mpp.12289

РОЛЬ ОСМОЛИТОВ И МЕМБРАННЫХ ЛИПИДОВ АЦИДОФИЛЬНОГО БАЗИДИОМИЦЕТА *PHLEBIOPSIS GIGANTEA* В ОТВЕТЕ НА СТРЕССОРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Януцевича Е. А.¹, Данилова О. А.², Грум О. А. -Гржимайло^{2,3}, 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

³Лаборатория генетики, группа изучения растений, университет Вагенингена, Нидерланды

Ацидофильные грибы — одна из групп экстремофилов, способных осуществлять свой цикл развития в кислых условиях среды, тогда как большинство грибов предпочитают около-нейтральные значения pH. К ацидофилам относят грибы, имеющие оптимум роста при pH ниже 4, но не способные к росту в нейтральных условиях, тогда как ацидотолеранты растут в кислых, нейтральных или даже слабощелочных условиях [1]. Считается, что основным механизмом адаптации к кислым условиям среды является поддержание внутриклеточного pH при помощи водородных помп [2,3], откачивающих протоны из цитоплазмы. У грибов система регуляции внутриклеточного pH включает АТФазы вакуолярного типа (V-АТФаза) и протонный насос Р-типа Pma1, действующий совместно с большим количеством других транспортеров [4]. Многочисленные исследования ответа грибов на действие разнообразных абиотических факторов показали, что ключевым звеном адаптации является защита мембран и макромолекул клетки путем изменения состава мембранных липидов и осмолитов цитоплазмы, синтеза шаперонов и антиоксидантов [5–7], однако для ацидофилов таких данных не было.

Ранее мы высказали предположение о том, что в адаптации к кислым условиям среды могут участвовать осмолиты и мембранные липиды для защиты цитоплазматической мембраны от агрессивной внешней среды. Наши исследования подтвердили это предположение: так в мицелии ацидофильного базидиомицета *Sistotrema brinkmannii* и аскомицета *Mollisia* sp. впервые было обнаружено большое количество трегалозы при оптимальных условиях (pH 4.0) [8,9]. Поскольку трегалоза способна защищать не только макромолекулы, но и мембраны клетки, мы предположили, что может существовать взаимосвязь между изменениями в осмолитной и мембранной системах клетки при адаптации к различным стрессорам. Ацидофилы, как и все остальные грибы, в природных условиях сталкиваются с воздействием дополнительных стрессорных факторов — теплового, холодового, осмотического. Полученные нами ранее данные об использовании трегалозной защиты дают нам основание предположить, что ацидо-

фильные микромицеты также могут использовать мембранную и осмолитную системы клетки для адаптации к разнообразным абиотическим стрессорным факторам.

Для доказательства участия осмолитов в адаптации ацидофильных грибов мы изучили состав осмолитов и мембранных липидов у ацидофильного базидиомицета *Phlebiopsis gigantea* в динамике роста при оптимальных условиях (pH 4.0) и на границах диапазона роста (pH 2.6; 5.0), а также под воздействием теплового (ТШ), холодового (ХШ) и осмотического (ОШ) шоков.

Базидиомицетный гриб *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jülich (Phanerochaetaceae, Polyporales, Incertae sedis, Agaricomycetes, Agaricomycotina, Basidiomycota, Fungi); был выделен из торфа с глубины 0.5 м переходного аапа-болота, идентифицирован по ITS региону рДНК и депонирован в ГенБанк с присвоением номера JQ780612 [10], и депонирован в VKM под номером VKM F-4932. Грибы поддерживали на стандартной агаризованной среде на основе солодового экстракта, 17 г/л («Condalab»), с цитратно-фосфатным буфером (pH 4.0) при оптимальной температуре 24–25°C. Для исследования воздействия различных значений pH *P. gigantea* культивировали в течение 14 сут при pH 2.6, 4.0 и 5.0 на чашках Петри на среде, покрытой целлофаном. Для создания ТШ, чашки переносили на 3 ч в условия 37.5°C, для ХШ — на 6 ч при 5°C. Контрольный вариант продолжали выращивать то же время в оптимальных условиях. Для создания ОШ переносили мицелий на целлофановой подложке на чашки с новой средой, содержащей 0.25 M NaCl на 6 ч при оптимальной температуре; в контрольном варианте мицелий переносили на новую среду без NaCl и продолжали культивирование то же время. Анализ углеводов и полиолов цитозоля, мембранных липидов и жирных кислот проводили, как описано ранее [9].

P. gigantea является облигатным ацидофилом, с оптимумом роста при pH 4.0, и отсутствием роста при pH 7.0. Тregarloза является одним из основных осмолитов, наряду с полиолами, на всех стадиях роста в оптимальных условиях (pH 4.0), что подтверждает участие осмолитов в адаптации к кислым условиям среды. Культиви-

рование *P. gigantea*, имеющего узкий оптимум роста при pH 4.0, на границах диапазона при pH 2.6 и 5.0 приводит к резкому снижению скорости роста, что сопровождается существенным снижением уровня трегалозы. В ответ на ХШ состав осмолитов не изменяется, тогда как ТШ вызывает двукратное повышение уровня трегалозы, и ее доля возрастает до 80%, а ОШ приводит к заметному повышению уровней трегалозы и арабита без изменения их долей.

Особенностью состава мембранных липидов гриба был низкий уровень стерина и сфинголипидов, тогда как фосфолипиды доминировали, достигая 89% от суммы. Фосфатидные кислоты (ФК), наряду с фосфатидилэтаноламинами (ФЭ) и фосфатидилхолинами (ФХ), являются одним из основных компонентов мембранных липидов, что указывает на их роль в экстремофилии грибов. Выращивание в условиях pH 2.6, где скорость роста гриба снижается в 3 раза, приводит к снижению доли ФК и повышению ФХ, а при pH 5.0, где скорость роста снижается меньше, мы видим повышение доли ФК на фоне снижения ФЭ. Количество мембранных липидов оставалось постоянным под действием всех стрессоров, при этом изменялись их доли. Так, ОШ приводил к небольшому повышению доли ФХ на фоне снижения ФК, а ХШ и ТШ — к росту доли стерина.

Отличительной особенностью состава жирных кислот фосфолипидов является доминирование полиненасыщенной линолевой кислоты (75% от суммы) и насыщенной пальмитиновой кислоты (20% от суммы), что обуславливает высокую степень ненасыщенности (около 1.5). Незначительные колебания в составе жирных кислот мембранных липидов позволяют утверждать, что механизм изменения степени ненасыщенности не участвует в адаптации к стрессорам.

Таким образом полученные результаты позволяют выявить взаимосвязь изменений в осмолитной и мембранной системах клетки. Так, при выращивании в условиях неблагоприятных pH наблюдалось существенное снижение количества трегалозы и одновременно заметные изменения в составе мембранных липидов. При воздействии всех видов шоков не наблюдалось снижения уровня трегалозы и колебания в составе мембранных липидов были незначительны.

В совокупности полученные данные доказывают участие осмолитов и мембранных липидов в адаптации ацидофилов к стрессорным воздействиям, а также указывают на то, что поддержание или увеличение уровня

трегалозы обеспечивает стабильность состава мембранных липидов.

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

Список литературы

1. Coleine, C.; Stajich, J.E.; Selbmann, L. Fungi Are Key Players in Extreme Ecosystems. *Trends Ecol Evol* 2022, 37, 517–528, doi:10.1016/j.tree.2022.02.002.
2. Dass, R.S. Survival Strategies in Cold-Adapted Microorganisms; Goel, R., Soni, R., Suyal, D.C., Khan, M., Eds.; Springer Singapore: Singapore, 2022; ISBN 978-981-16-2624-1.
3. Coker, J.A. Recent Advances in Understanding Extremophiles. *F1000Res* 2019, 8, 1917, doi:10.12688/f1000research.20765.1.
4. Kane, P.M. Proton Transport and pH Control in Fungi. In *Yeast Membrane Transport*; Ramos, J., Sychrová, H., Kschischo, M., Eds.; Advances in Experimental Medicine and Biology; Springer: Cham, 2016; Vol. 892, pp. 33–68 ISBN 978-3-319-25302-2.
5. Piper, P.W. Molecular Events Associated with Acquisition of Heat Tolerance by the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol Rev* 1993, 11, 339–355, doi:10.1111/j.1574-6976.1993.tb00005.x.
6. Vigh, L.; Escibá, P. V.; Sonnleitner, A.; Sonnleitner, M.; Piotto, S.; Maresca, B.; Horváth, I.; Harwood, J.L. The Significance of Lipid Composition for Membrane Activity: New Concepts and Ways of Assessing Function. *Prog Lipid Res* 2005, 44, 303–344, doi:10.1016/j.plipres.2005.08.001.
7. Péter, M.; Gudmann, P.; Kóta, Z.; Török, Z.; Vigh, L.; Glatz, A.; Balogh, G. Lipids and Trehalose Actively Cooperate in Heat Stress Management of *Schizosaccharomyces pombe*. *Int J Mol Sci* 2021, 22, 13272, doi:10.3390/ijms222413272.
8. Ianutsevich, E.A.; Danilova, O.A.; Grum-Grzhimaylo, O.A.; Tereshina, V.M. The Role of Osmolytes and Membrane Lipids in the Adaptation of Acidophilic Fungi. *Microorganisms* 2023, 11, 1733, doi:10.3390/microorganisms11071733.
9. Януцевич, Е.А.; Данилова, О.А.; Грум-Гржимайло, О.А.; Гроза, Н.В.; Терёшина, В.М. Адаптация Ацидофильного Гриба *Sistotrema brinkmannii* к pH Фактору. *Микробиология* 2023, 92, 279–288, doi:10.31857/S0026365622600870.
10. Grum-Grzhimaylo, O.A.; Debets, A.J.M.; Bilanenko, E.N. The Diversity of Microfungi in Peatlands Originated from the White Sea. *Mycologia* 2016, 108, 233–254, doi:10.3852/14-346.

РОСТ ВЕГЕТАТИВНОГО МИЦЕЛИЯ *MUTINUS ELEGANS* НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ РАЗНОГО СОСТАВА

Коваленко С.А., Хархасова И.А., Пантелеев С.В.
Институт леса НАН Беларуси, Гомель

Мутинус изящный (*Mutinus elegans*) является представителем семейства веселковых *Phallaceae*. Плодовое тело развивается под землей и появляется на поверхности в виде белого яйцевидного образования диаметром 2–4 см, белого и гладкого. Из яйца в течение нескольких часов вытягивается полая ножка (рецептакул) с округлой головой, поднимаясь вверх до 10–12 см. Плодоножка пористая, ломкая, розовато-белого цвета; снизу она цилиндрическая, но постепенно сужается к узкой вершине с небольшим отверстием на кончике. Плодоножка часто не прямостоячая, а стелющаяся по земле, слег-

ка изогнутая, диаметром около 1 см. Верхняя половина рецептакула красного цвета, покрыта неприятно пахнущей слизистой оливково-зеленой споровой массой, называемой глебой. Неприятный запах привлекает насекомых, которые объедая плодовую массу, тем самым помогают распространяться спорам. Очень похожи на *M. elegans* мутинус собачий (*M. caninus*) и мутинус Равенеля (*M. ravenelii*). *M. elegans* и *M. ravenelii* включены в ряд региональных Красных книг Российской Федерации, в Красную книгу Украины [1]. Съедобность гри-

ба неизвестна, имеются сообщения о употреблении в пищу незрелых яиц вида *Mutinus* [2].

Исследование 32 грибов-базидиомицетов показало, что *M. elegans* был единственным видом, проявившим антибиотическую, антибактериальную и фунгицидную активность в отношении всех шести протестированных патогенных для человека микроорганизмов: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* [3, 4].

В качестве объекта исследований использовали штамм FIB-591 *Mutinus elegans* (Mont.) E. Fisch. из коллекции штаммов грибов Института леса НАН Беларуси (FIB). Культурa выделена из плодового тела в стадии «яйца», собранного во влажном месте на гниющей древесине, ГЛХУ «Кореневская экспериментальная лесная база Института леса НАН Беларуси», Кореневское лесничество, квартал 166, выдел 22, 52°20'49" N, 31°06'40" E (рис. 1). Плодовое тело любезно передал заведующий лабораторией лесной селекции и семеноводства Института леса НАН Беларуси Сидор Александр Ильич.

Для видовой идентификации штаммов были получены препараты суммарной ДНК, выделенные полным СТАВ-методом. Амплификацию диагностического локуса проводили с использованием готового ПЦР-буфера ArtMix (ООО «АртБиоТех», Республика Беларусь) с праймерами ITS1 (CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA) и ITS4 (TCCTCCGCTTATTGA-TATGC), по протоколу: предварительная денатурация 95 °С – 3 мин; 40 циклов денатурация при 95 °С по 20 с, отжиг при 55 °С – 20 с, элонгация (72 °С, 45 с). Визуализацию продуктов реакции осуществляли в 1,5% агарозном геле. Продукты реакции очищали магнитными частицами AMPure XP (Beckman Coulter, США). Секвенирующую реакцию проводили с использованием Big Dye Terminator v 1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) с одним из праймеров по следующему протоколу: 96 °С – 1 мин; 40 циклов при 96 °С 10 с, отжиг при 50 °С – 5 с, элонгация (60 °С, 3 мин). Расшифровку нуклеотидной последовательности осуществляли на автоматическом секвенаторе Genetic Analyzer 3500 (Thermo Fisher Scientific, США) в лаборатории геномных исследований и биоинформатики ГНУ «Институт леса НАН Беларуси». Видовую идентификацию проводили путем сравнения полученной нуклеотидной последовательности с депонентами международного генного банка Национального центра биотехнологической информации (NCBI, США). Штамм 591 генетически верифицирован и депонирован в базу NCBI с присвоением номера PP531609.



Рис.1. *M. elegans* (FIB-591)

Изучение культуральных особенностей роста колоний грибов на различных питательных средах является одной из актуальных задач современной микологии и грибоводства. Это дает возможность идентифицировать грибные культуры в вегетативной стадии развития,

поддерживать штаммы в должном физиологическом состоянии. Кроме того, такое изучение имеет большое практическое значение. В частности, с помощью полученных данных можно установить зависимость роста гриба от условий выращивания. С этой целью нами был проведен сравнительный анализ скорости роста мицелия природного штамма *M. elegans* на агаровых питательных средах разного состава:

- натуральных: агаризованное пивное сусло (СА); пшеничный агар (ПА)
- комплексной: картофельно-глюкозный агар (КГА);
- синтетической: среда Мурасиге-Скуга (MS).

Все среды готовили и стерилизовали по общепринятым методикам [5].

Как посевной материал использовали 24-суточные культуры *M. elegans*, выращенные на СА. Диски мицелия диаметром 6 мм вырезали по краю активно растущей колонии грибов, переносили их в центр чашки Петри (d = 90 мм) с вышеуказанными питательными средами и инкубировали в термостате при температуре 24°С до полного зарастания мицелием чашки Петри. Диаметр колоний измеряли в двух взаимно перпендикулярных направлениях через сутки. Скорость радиального роста (СР, мм/сут.) вегетативного мицелия *M. elegans* описывали по методике Е.Ф. Соломко [6]. Отмечалась плотность колонии по трехбалльной системе (1 – редкая, 2 – средняя, 3 – плотная). Ростовой коэффициент (РК) рассчитывали на 14, 24 и 35 сутки по методике А.С. Бухало [7].

Для обобщения полученных данных использовали показатели обобщенной скорости радиального роста и ростового коэффициента мицелиальных культур (X_{ϕ}), которые рассчитывали по средним арифметическим. Повторность всех проведенных опытов была трехкратной. Ростовые параметры культуры: скорость роста (СР, мм/сут.) и ростовой коэффициент (РК) представлены в таблице.

Табл. 1. Ростовые параметры FIB-591 *M. elegans*

Питательная среда	Ростовые параметры	Продолжительность, сут.			X_{ϕ}
		14	24	35	
1. Пивное сусло	СР	0,74	0,74	0,74	0,74
	РК	17,3	15,5	14,8	15,9
2. Пшеничный агар	СР	1,38	1,33	1,05	1,25
	РК	3,2	2,9	2,3	2,8
3. Картофельно-глюкозная	СР	0,38	0,41	0,46	0,42
	РК	1,2	1,1	1,1	1,1
4. Мурасиге-Скуга	СР	1,38	1,22	1,04	1,21
	РК	4,8	4,0	3,4	4,1

По результатам таблицы видно, что наиболее благоприятной для роста FIB-591 *M. elegans* является пивное сусло (РК=15,9). На остальных средах наблюдался редкий мицелий, что свидетельствует о неполноценности среды (рис. 2).

На СА (4°Б, рН 6,5) колония белая пушистая перистая; мицелиальные пучки гиф радиально отходят от центральной оси, веерообразно расположены; форма колонии по характеру развития воздушного мицелия неравномерная; зона роста неоднородная; край колонии приподнимающийся; реверзум колонии цвета среды; плотность колонии 3 балла, высота колонии 3 мм,

ростовой коэффициент на 24-е сутки 15,5, средний диаметр колонии $41,3 \pm 0,7$ мм, радиальная скорость роста колонии 0,7 мм/сут. Полное зарастание чашки Петри наблюдалось на 56 сутки инкубации.

На ПА (рН 6,7) мицелий редкий, колония полупрозрачная, поверхность колонии ровная, край колонии прижатый, плотность и высота колонии – до 1, РК на 24-е сутки 2,9, средний диаметр колонии $69,8 \pm 0,3$, радиальная скорость роста колонии 1,3 мм/сут. Полное зарастание чашки Петри – на 38 сутки инкубации.

На КГА мицелий тонкий полупрозрачный, отмечались крупные зоны, зона роста неоднородная, на 50-е сутки край колонии приподнимающийся пушистый, плотность и высота колонии – 1, РК на 24-е сутки 1,1, средний диаметр колонии $25,7 \pm 0,4$, радиальная скорость роста колонии 0,4 мм/сут. Полное зарастание чашки Петри – на 56-58 сутки инкубации.

На MS (рН 5,7) колония полупрозрачная; форма колонии по характеру развития воздушного мицелия неравномерная; зона роста неоднородная; край колонии белый пушистый, приподнимающийся; плотность колонии 1 балл, высота колонии 1,5 мм, ростовой коэффициент на 24-е сутки 4; средний диаметр колонии $64,7 \pm 1,1$ мм, радиальная скорость роста колонии 1,22 мм/сут. Полное зарастание чашки Петри наблюдалось на 38-41 сутки инкубации.



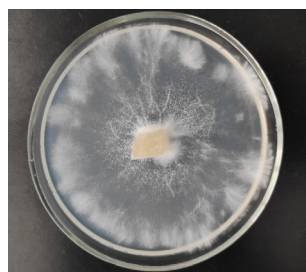
Агаризованное пивное сусло
(56 сутки)



Пшеничный агар (38 сутки)



Картофельно-глюкозный агар
(56 сутки)



Среда Мурасиге-Скуга (41 сутки)

Рис. 2. Макроморфологические особенности FIB-591 *M. elegans* на питательных средах

Результаты проведенных исследований позволили установить, что ростовые параметры *M. elegans* зависят

от состава агаровых сред, более высокий ростовой коэффициент получен на агаризованном пивном сусле. Для исследуемой культуры максимальные значения радиальной скорости роста получены на пшеничном агаре и среде Мурасиге-Скуга. Учитывая дополнительные показатели роста колонии (высоту и плотность), эти среды нельзя рекомендовать для вегетативного размножения и хранения данной культуры.

Список литературы

1. Санамян К.Э., Санамян Н.П., Чернягина О.А. *Mutinus ravenelii*: первая находка представителя порядка Phallales (Basidiomycota, базидиальные грибы) на Камчатке. Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей: материалы XXIV междунар. науч. конф., посвящ. 300-летию Рос. акад. наук. Петропавловск-Камчатский. 2023: 77-81.
2. Arora D. *Mushrooms demystified: a comprehensive guide to the fleshy fungi* (2nd ed.). Berkeley: Ten Speed Press, 1986: 959 p.
3. Coletto M.B., Lelli P. Antibiotic activity in Basidiomycetes. XII. Antibacterial and antifungal activity of 32 new strains. *Allionia* (Turin). 1998; 36: 89–92.
4. Coletto M.B. Antibiotic activity in Basidiomycetes. XIV. Antibacterial and antifungal activity of some new recently isolated strains. *Allionia* (Turin). 2006; 40: 33–37.
5. Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. и соавт. Методы экспериментальной микологии. Справочник. Киев: Наукова думка, 1982: 552 с.
6. Соломко Е.Ф., Ломберг М.Л., Митропольська Н.Ю., Чоловська О.В. Ріст окремих видів лікарських макроміцетів на поживних середовищах різного складу. *Укр. ботан. журн.* 2000; 57 (2): 119–126.
7. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре / отв. ред. И.А. Дудка; Ин-т ботаники им. Н.Г. Холодного. Киев: Наукова думка, 1988: 144 с.

ИЗМЕНЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛЕТОК АСКОМИЦЕТА *PODOSPORA ANSERINA* В ПРОЦЕССЕ МНОГОЛЕТНЕГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Кудрявцева О.А.¹, Гаспарян А.А.¹, Агроскин С.М.¹, Белозерский М.А.², Дунаевский Я.Е.²

¹ Биологический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва

² НИИ физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского МГУ, Москва

За последние несколько десятилетий адаптивная лабораторная эволюция стала неотъемлемой частью эволюционной биологии, давая возможность наблюдать и изучать изменения, которые происходят в контролируемых популяциях в течение многих поколений.

Подавляющее большинство работ по экспериментальной эволюции грибов проводится на твердых средах (1, 2). Однако грибы по-разному ведут себя при культивировании в разных условиях, и изменения, сопровождающие переход в новую среду, недостаточно из-

учены. Погруженное культивирование – необычная, малоизученная система в контексте экспериментальной эволюции. Модельным объектом для изучения адапционных изменений в этих условиях был взят аскомицетный гриб *Podospora anserina* (Rabenh.) Niessl., который, будучи популярным как модель среди генетиков и молекулярных биологов, в исследованиях, напрямую посвященных вопросам эволюционной биологии, прежде задействован не был. Таким образом, это одна из первых работ, в которой изучаются различные аспекты адаптации сложного грибного организма к длительному погруженному культивированию.

Сравнение данных электронномикроскопических наблюдений ультраструктуры клеток *P. anserina* на различных этапах многолетнего эксперимента выявило появление большого количества специфических двумембранных везикул и позволило выстроить динамику процесса формирования таких структур. Указанные везикулы образуются путем инвагинации плазмалеммы внутрь клетки: сначала формируется двумембранная структура, все более и более вдающаяся в цитоплазму, которая выглядит на клеточном срезе как тяж из двух слипшихся между собой мембран. Затем двумембранный тяж изгибается и замыкается сам на себя (иногда – на цитоплазматическую мембрану в точке, близлежащей к точке начала формирования тяжа), в результате чего внутри цитоплазмы формируется пузырек, окруженный двумя мембранами. На данном этапе двумембранная везикула имеет короткий одномембранный участок, который представляет собой участок плазмалеммы, непосредственно контактирующий с окружающей средой. Возможно, на этом участке идет обмен молекулами со средой культивирования. Захваченный фрагмент пристеночной цитоплазмы, вероятно, разрушается внутри такой везикулы, так как в большинстве случаев внутреннее содержимое электроннопрозрачное. Отшнуровывание двумембранных везикул от плазмалеммы происходит так же, как и у простых эндоцитозных везикул – они «отрезаются» близ плазмалеммы, после чего свободные края, каждый из которых завершен в форме «игольного ушка» (две мембраны, лежащие рядом в тяже, при его перерезании сразу же слипаются, но для такого слипания они образуют структуру с просветом, похожую на ушко иглки), смыкаются вместе. Затем эти везикулы мигрируют внутрь, в толщу цитоплазмы; их присутствие может быть обнаружено в любой части клеточного среза. Данные структуры на клеточных срезах обычно имеют эллиптическую форму и их размеры более или менее постоянны и составляют 200-250×300-350 нм (редко встречаются более крупные). Следует отметить, что двумембранные везикулы не являются специфичными для экспериментальных линий. Они присутствуют и у контрольных диких штаммов *P. anserina*, из которых экспериментальные линии были получены. Однако в клетках диких штаммов везикулы

с двумя мембранами встречаются значительно реже, при этом их сложнее заметить из-за более высокой электронной плотности цитоплазмы, а также обилия мелких одномембранных вакуолей, на фоне которых искомые везикулы теряются. Продолжительный непрерывный рост в погруженных условиях делает цитоплазму клеток *P. anserina* намного более электроннопрозрачной. Сравнение данных электронномикроскопических наблюдений ультраструктуры клеток *P. anserina* на различных этапах многолетнего эксперимента не выявило значимых различий с более ранними экспериментальными образцами. Характер взаимного расположения органелл, частота заложения септ, толщина клеточных стенок, величина ядерных срезов, электронная плотность ядрышек, количество и очертания митохондриальных срезов, расположение крист, степень вакуолизации мицелия, наличие специфических двумембранных везикул и другие параметры – все они оставались стабильными на протяжении нескольких лет эволюционного эксперимента. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что, будучи единожды сформированным, адаптивный комплекс признаков далее не меняется на протяжении нескольких лет.

Процесс формирования двумембранных везикул у *P. anserina* напоминает макропиноцитоз животных (3), но с одной существенной поправкой: клетки животных формируют выпячивания наружу (филоподии). Филоподии захватывают воду и растворенные питательные вещества извне, замыкаются в другой точке клеточной мембраны, в результате чего внутрь клетки отшнуровывается одномембранная везикула с содержимым, которое прежде принадлежало ее окружению. У грибов такое невозможно из-за наличия клеточной стенки. Можно предположить, что у грибов наблюдается инвертированный макропиноцитоз. Функции двумембранных везикул у *P. anserina* пока остаются не понятыми. Установление роли таких везикул у грибов может стать перспективным направлением в исследованиях цитологии грибной клетки.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, грант № 23-24-00318.

Список литературы

1. Graham JK, Smith ML, Simons AM. 2014. Experimental evolution of bethedging under manipulated environmental uncertainty in *Neurospora crassa*. *Proc Biol Sci.* 281, 1787, pii: 20140706.
2. Bastiaans E, Debets AJM, Aanen DK. 2016. Experimental evolution reveals that high relatedness protects multicellular cooperation from cheaters. *Nat Commun.* 7, 11435.
3. Kay R.R. 2021, Macropinocytosis: Biology and mechanisms. *Cells Dev.* 168, 203713.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ГРАНИЦ РОСТА ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ВИДОВ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ПНЕВМОМИКОЗОВ

Кулько А.Б.

Московский городской НПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ, Москва

Условно-патогенные микроскопические грибы – разнообразная по таксономии (*Zygomycota*, *Ascomycota*,

Basidiomycota) и морфологии (дрожжевые виды, мицелиальные (плесневые) виды) группа микромицетов из

окружающей среды, потенциальных возбудителей оппортунистических (вторичных) микозов человека [1-3]. К настоящему времени описано значительное число грибов-оппортунистов, способных вызывать у предрасположенных лиц инфекционные заболевания бронхолегочной системы, а также диссеминированные микозы с поражением легких [2-6]. Оппортунистические микромицеты заметно различаются по отношению к температуре культивирования на питательных средах (температурные диапазоны роста, максимальные и оптимальные температуры роста) [7, 8]. Термотолерантные виды грибов-оппортунистов способны активно развиваться *in vitro* в диапазоне 37-40°C, отдельные термофильные виды хорошо растут и при более высоких температурах (45-50°C) [2, 5, 9]. Способность гриба к росту при 37°C – один из основополагающих факторов вирулентности микромицетов; термотолерантность характерна для основных возбудителей глубоких оппортунистических микозов [5, 10]. Однако большинство грибов-оппортунистов имеют оптимальные температуры роста ниже 37°C; у значительного числа видов отмечается варьирование способности к росту при 37°C; ряд возбудителей не растут (или слабо развиваются) при 37°C, а некоторые – и при 35°C [2, 5, 6, 8, 9].

Цель данного исследования – анализ способности роста *in vitro* при разных температурах у ряда оппортунистических дрожжевых и мицелиальных видов грибов, обнаруженных при диагностике бронхолегочных и диссеминированных микозов у больных туберкулезом в ГБУЗ МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ.

Температурные границы роста (способность к росту при 30°C, 35°C, 37°C) были исследованы в скрининговом формате у 4730 клинических штаммов 67 видов оппортунистических грибов из групп возбудителей кандидоза (14 видов: *Candida albicans*, *C. dubliniensis*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. norvegensis*, *C. parapsilosis*, *C. rugosa*, *C. tropicalis*, *C. zeylanoides*, *Yarrowia lipolytica* (*C. lipolytica*)), криптококкоза (3 вида: *Cryptococcus albidus*, *Cr. laurentii*, *Cr. neoformans*), редких глубоких дрожжевых инфекций (6 видов: *Geotrichum candidum*, *Hanseniaspora uvarum*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhod. mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saprochaete capitata*); аспергиллеза (14 видов: *Aspergillus flavipes*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. glaucus*, *A. hollandicus* (*Eurotium amstelodami*), *A. nidulans*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. oryzae*, *A. restrictus*, *A. sydowii*, *A. terreus*, *A. ustus*, *A. versicolor*), зигомикоза (мукормикоза) (3 вида: *Mucor circinelloides*, *M. hiemalis*, *Rhizopus arrhizus*), гиалогифомикоза (19 видов: *Acremonium kiliense*, *Acr. strictum*, *Chaetomium globosum*, *Fusarium chlamydosporum*, *F. dimerum*, *F. oxysporum*, *Paecilomyces lilacinus*, *Paec. variotii*, *Penicillium chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. commune*, *P. decumbens*, *P. expansum*, *P. spinulosum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Talaromyces purpureogenus*, *T. rugulosus*, *Trichoderma harzianum*, *Tr. viride*), феогифомикоза (8 видов: *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cl. herbarum*, *Cl. sphaerospermum*, *Curvularia hawaiiensis*, *Curv. lunata*, *Ulocladium chartarum*). Используемые питательные среды: агар Сабуро (дрожжевые и дрожжеподобные (с артросторами) виды), картофельно-декстрозный агар (мицелиальные виды). Исследованные штаммы были выделены из респираторного материала (содержимое бронхов, полученное при фибробронхоскопии; мокрота), хирургического материала (образцы легочной ткани; содержимое

легочных и плевральных полостей), крови, спинномозговой жидкости.

Данные по количеству и соотношению обнаруженных термотолерантных клинических штаммов грибов представлены в таблице.

Табл. 1. Количество термотолерантных клинических штаммов грибов различных групп, способных к росту *in vitro* при 37°C.

Группа грибов	Общее число видов		Общее число штаммов		Количество штаммов с наличием роста при 37°C*	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%*
Дрожжевые грибы	23	34,3	3594	76,0	3539	98,5
Плесневые грибы	44	65,7	1136	24,0	873	76,9
Возбудители кандидоза	14	20,9	3448	72,9	3437	99,7
Возбудители криптококкоза	3	4,5	21	0,4	18	85,7
Возбудители редких дрожжевых микозов	6	8,9	125	2,6	84	67,2
Возбудители аспергиллеза	14	20,9	793	16,8	627	79,1
Возбудители зигомикоза	3	4,5	27	0,6	22	81,5
Возбудители гиалогифомикоза	19	28,4	242	5,1	177	73,1
Возбудители феогифомикоза	8	11,9	74	1,6	47	63,5
Все виды	67	–	4730	–	4412	93,3

Примечание: * – доля растущих при 37°C штаммов от общего числа в группе грибов

Было обнаружено, что общая доля термотолерантных штаммов, способных к росту при 37°C, превышала 93%. Доля термотолерантных штаммов дрожжевых грибов составляла около 99%, мицелиальных грибов – около 77%. Следует отметить, что доля штаммов, растущих при 37°C, была выше у возбудителей распространенных оппортунистических глубоких микозов (кандидоз (около 100%), криптококкоз (86%), зигомикоз (82%) аспергиллез (80%)) по сравнению с возбудителями более редких нозологических форм (гиалогифомикоз (73%), редкие дрожжевые инфекции (67%), феогифомикоз (64%)).

По обнаруженной способности клинических штаммов к росту *in vitro* при 37°C исследованные 67 видов грибов были разделены на три группы:

термотолерантные виды с наличием роста у всех выделенных штаммов (37 видов (55%): *Acr. kiliense*, *Acr. strictum*, *Alt. alternata*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. terreus*, *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. norvegensis*, *C. parapsilosis*, *C. rugosa*, *C. tropicalis*, *Ch. globosum*, *Cr. neoformans*, *Curv. hawaiiensis*, *Curv. lunata*, *F. dimerum*, *F. oxysporum*, *M. circinelloides*, *Paec. lilacinus*, *Paec. variotii*, *P. citrinum*, *P. decumbens*, *Rh. arrhizus*, *Rhod. mucilaginosa*, *Sapr. capitata*, *Sc. brevicaulis*, *T. purpureogenus*, *Y. lipolytica*);

виды с вариативным ростом штаммов (23 вида (34%): *A. flavipes* (рост при 37°C наблюдался у более 50% штаммов), *A. glaucus* (<50% штаммов), *A. hollandicus* (<50% штаммов), *A. ochraceus* (<50% штаммов), *A. oryzae* (>50% штаммов), *A. sydowii* (<10% штаммов), *A. ustus* (>90% штаммов), *A. versicolor* (<10% штаммов), *Aur. pullulans* (>50% штаммов), *Cl. cladosporioides* (<50% штаммов), *Cl. herbarum* (>50% штаммов), *Cr. albidus* (<50% штаммов), *Cr. laurentii* (>50% штаммов), *F. chlamydosporum* (>50% штаммов), *G. candidum* (<50% штаммов), *H. uvarum* (<20% штаммов), *M. hiemalis* (<20% штаммов), *P. chrysogenum* (<50% штаммов), *Rh. glutinis* (>50% штаммов), *Sacch. cerevisiae* (>50% штаммов), *Tr. harzianum* (50% штаммов), *Tr. viride* (<50% штаммов), *Ul. chartarum* (50% штаммов));

виды с отсутствием роста у всех штаммов (7 видов (11%): *A. restrictus*, *C. zeylanoides*, *Cl. sphaerospermum*, *P. commune*, *P. expansum*, *P. spinulosum*, *T. rugulosus*).

Активно развивались *in vitro* при 37°C: 16 из 23 видов дрожжевых грибов (70%); 21 из 44 видов мицелиальных грибов (48%). К росту при 37°C были способны все штаммы 15 видов грибов второй группы биологического риска (Biological Safety Levels) – BSL-2 (классификация Всемирной организации здравоохранения) [2, 5].

Микромицеты из группы с вариативным ростом (23 вида) существенно различались долей штаммов, растущих при 37°C: от менее 10% (20%) до более 90% штаммов.

Не обладали способностью к росту *in vitro* при 37°C штаммы 6 видов мицелиальных (14%) и 1 вид дрожжевых (4%) грибов. По литературным данным, 4 из 7 не растущих при 37°C видов известны в качестве возбудителей глубоких микозов человека (*A. restrictus*, *C. zeylanoides*, *P. commune*, *P. spinulosum*) [2, 5]. Три вида мицелиальных грибов (7%) не были способны к росту *in vitro* при 35°C: *A. restrictus*, *P. expansum*, *P. spinulosum*.

Таким образом было установлено, что общая доля термотолерантных штаммов грибов, выделенных от больных туберкулезом при диагностике бронхолегоч-

ных и диссеминированных микозов, превышала 93%. Доля термотолерантных штаммов была выше у дрожжевых видов по сравнению с мицелиальными, а также у видов возбудителей распространенных внутрибольничных оппортунистических микозов по сравнению с возбудителями редко встречаемых вариантов микозов. Часть видов грибов, способных колонизировать нижние дыхательные пути у больных туберкулезом, не развивалась на питательных средах при 37°C.

Список литературы

1. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. – М.: Медицина для всех, 2005. – 196 с.
2. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов; пер. с англ. К.Л. Тарасова, Ю.Н. Ковалева; под ред. И.Р. Дорожкиной – М.: Мир, 2001. – 468 с.
3. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Руководство для врачей. – М.: Изд-во Бином, 2008. – 480 с.
4. Кулько А.Б. Бронхолегочные микозы у больных туберкулезом: состав и свойства возбудителей, лабораторная диагностика: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.02.03. – Москва – 2020. – 49 с.
5. Hoog de G.S., Guarro J., Gene J., Figueras M.J. Atlas of clinical fungi. Electronic Version 3.1 – CBS: Reus, 2011. – URL: <http://www.clinicalfungi.org/>
6. The Aspergillus Website (Aspergillus & Aspergillosis Website). – URL: <http://www.aspergillus.org.uk/>
7. Чернов И.Ю. Дрожжи в природе. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2013. – 336 с.
8. Kurtzman C.P., Fell J.W., Boekhout T. The yeast a taxonomic study. 5th ed. – Elsevier, Amsterdam. – 2011. – 2080 p.
9. Mycology Online. The University of Adelaide. – URL: <http://www.mycology.adelaide.edu.au/>
10. Köhler J.R., Casadevall A., Perfect J. The spectrum of fungi that infects humans. // Cold Spring Harb Perspect Med. – 2014. – Vol. 5(1). – P 1-22.

ОСОБЕННОСТИ РОСТА МИЦЕЛИЯ ТРАМЕТЕСА РАЗНОЦВЕТНОГО НА РАЗНЫХ ПО СОСТАВУ ТВЕРДЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Лавлинский А.В.

Воронежский государственный университет

Траметес разноцветный (*Trametes versicolor*, синоним Индюшачий хвост) – также известный как *Coriolus versicolor* и *Polyporus versicolor* – распространенный ксилотрофный гриб, встречающийся по всему миру. Траметес разноцветный содержит антиоксиданты, помогающие укрепить иммунную систему, что может снизить риск заболевания раком. Препараты из его плодовых тел и мицелия также улучшают баланс кишечных бактерий и могут помочь снизить риск развития аллергии и различных аутоиммунных заболеваний. В народной медицине используется для лечения диабета и нормализации уровня глюкозы в крови. В настоящее время на основе плодовых тел и мицелия этого гриба изготавливают различные БАДы. В производстве наиболее быстро и доступно получение зернового мицелия траметеса, который по своим полезным свойствам не уступает плодовым телам, в тоже время получить его можно в более короткие сроки и в большем количестве с меньшими затратами на выращивание. Целью нашей работы было изучение особенностей роста двух штам-

мов мицелия траметеса разноцветного на твердых питательных средах (агар с различными ингредиентами, зерно пищевых злаковых культур). В качестве объектов исследования были взяты штаммы ВКМ FW-1144 и ВКМ F-462, полученные из коллекции культур Всероссийской Коллекции Микроорганизмов (Московская область, г. Пушкино).

Изучение динамики скорости роста колоний этих штаммов на стандартной питательной среде для грибных культур на основе агара показало, что штамм ВКМ F-462 быстрее колонизировал среду. Полное зарастание твердой зерновой питательной среды (бурый рис, рожь) после ее термической обработки (варка зерна, стерилизация в автоклаве) в стеклянных емкостях объемом 0,5 – 0,7 л путем внесения в нее кусочков колонии мицелия траметеса из агаровой среды проходило в течении 3 – 4 недель при температуре +20 – +22 С, причем, скорость колонизации зерновой среды изучаемыми штаммами статистически достоверно не отличалась и в большей степени зависела от температуры и состава среды. По-

лученные результаты показали на возможность использования изучаемых штаммов траметеса разноцветного

для получения его мицелия на субстрате из зерна злаковых культур.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ МИКРОМИЦЕТОВ И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СПОСОБОВ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ ШТАММОВ

Лиховидов В.Е.¹, Александрова А.В.², Юскевич В.В.³

¹ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболенск

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

³Научно-производственный центр «МикроМир», Любучаны

Для выделения грибов в культуру применяют традиционные агаризованные питательные среды Сабуро, Чапека, картофельно – декстрозный, рисовый и мальт-агар; среды, содержащие хитин и почвенный экстракт, а также среду с яичным желтком. При этом из многих полевых образцов выделить мицелиальные грибы в культуру не удастся. Например, по данным Papierok и Hajek [1], для выделения многих энтомопатогенных грибов, в частности, энтомофторовых, классические микологические среды такие, как Сабуро, декстрозный агар или мальт – экстракт агар, неприемлемы, так как культуры микромицетов на них растут бедно, либо не растут вообще. Для нормального роста и развития такие грибы нуждаются в богатых питательных средах, что обеспечивается добавлением в питательные среды яичных желтков, витаминов и аминокислот, а в отдельных случаях – тканей насекомых. Томилова с соавторами отмечают, что добавление в питательную среду белковой муки из личинок и пупариев мух влияет на скорость роста и способность к спороношению, а также на патогенность для насекомых грибов рода *Conidiobolus*, трудно культивируемых на стандартных питательных средах [2].

Нами обнаружено, что в процессе культивирования выделенных грибов с целью дальнейшей закладки их на длительное хранение среда Сабуро позволяет получать достаточное количество грибной биомассы, но не все культуры на этой среде достаточно быстро образуют споры. Этот вывод совпадает с литературными данными [3]. Для культивирования плохо спорующихся грибов в работе использовали среду Сабуро с добавлением почвенного экстракта. Но её приготовление также не является точно воспроизводимым. Существенных преимуществ среды с добавлением мучного хрущака перед обычной средой Сабуро не обнаружили. Быстрое спорообразование у грибных культур обеспечивает среда Чапека, но рост на этой среде скудный. Использование же мальт-агара оказалось мало приемлемым для закладки культур микромицетов на хранение под вазелиновое масло, так как среда в процессе хранения теряла твёрдость, и возникали трудности при высеве культур уже после года хранения.

Для повышения результативности выделения грибов из полевых образцов и дальнейшего культивирования грибных изолятов нами разработана питательная среда ММС (модифицированная микологическая среда). Состав среды (г/л): NaNO₃ - 2,0, KCl - 0,5; FeSO₄ × 7H₂O - 0,01; MgSO₄ × 7H₂O - 0,5; KH₂PO₄ - 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 рН – 7,3 ± 0,2.

В литературе встречаются упоминания о добавлении к средам для выделения энтомофторовых грибов в качестве антибиотиков также стрептомицина, пенициллина, тетрациклина и хлорамфеникола [4]. В нашей

работе использовали только гентамицин, так как он не оказывал влияния на рост и развитие грибов, и в то же время эффективно подавлял рост бактерий.

Для сравнения роста и развития микромицетов на разных питательных средах использовали классические питательные среды: Чапека, Сабуро и разработанную среду ММС. Грибы разных групп одновременно высевали на каждую питательную среду (по 2 чашки для каждого штамма), инкубировали в термостате при (24 ± 0,5) °С и ежедневно вели наблюдение за развитием грибов, отмечая рост грибной биомассы и сроки образования конидий. Данные представлены в таблице 1.

Табл. 1. Сравнение роста и развития микромицетов на разных питательных средах

Микромицеты	ММС		Чапека		Сабуро	
	Рост	Появление спор, сутки	Рост	Появление спор, сутки	Рост	Появление спор, сутки
<i>Fusarium solani</i>	+++*	3	+	3	++	6
<i>F. sporotrichioides</i>	+++	3	++	3	++	9
<i>F. culmorum</i>	+++	3	+	3	+++	6
<i>Geomyces pannorum</i>	+++	5	++	5	+++	9
<i>Cordyceps militaris</i>	+++	7	++	7	++	14
<i>Beauveria amorpha</i>	+++	7	++	7	+++	10
<i>Mariannaea elegans</i>	+++	6	+	6	++	10
<i>Tolypocladium geodes</i>	+++	6	++	6	+++	14
<i>Arthrobotrys oviformis</i>	+++	7	++	7	+++	14

Примечание: * (+) - скудный рост, (++) - слабый рост, (+++) - обильный рост

Результаты опыта свидетельствуют о том, что даже при одинаковом нарастании грибной биомассы на средах ММС и Сабуро, появление спор на среде Сабуро происходило позже, чем на модифицированной среде. Сравнивая рост исследуемых культур на средах ММС и Чапека, можно сделать вывод, что при одинаковых сроках спорообразования, нарастание грибной биомассы было большим на ММС, чем на среде Чапека.

В дальнейшем среду ММС использовали как для получения изолятов из природных микологических образцов, так и для культивирования выделенных штаммов микромицетов. ММС является достаточно богатой и стандартизированной питательной средой. Она обеспечивает наращивание биомассы грибов и одновременно

способствует их быстрой споруляции, позволяя в короткие сроки получить достаточное количество спор, необходимое для закладки культуры на длительное хранение. При тестировании штаммов микромицетов на антагонистическую активность грибы следует выращивать на среде ММС без добавления гентамицина.

Главной задачей любой микробиологической коллекции является поддержание и сохранение биологического материала в условиях, обеспечивающих неизменность генетических, культурально-морфологических, физиолого-биохимических и других свойств в процессе долгосрочного хранения. Мировой опыт коллекционной работы с мицелиальными культурами свидетельствует о том, что наиболее часто применяемый в микологической практике метод периодических пересевов (1 раз в 2 - 6 месяцев) для поддержания большой коллекции мало приемлем, так как чрезвычайно трудоемок, достаточно дорогостоящ и, кроме того, сопряжен с возможностью контаминации и изменением первоначальных свойств культуры [5]. Кроме того, установлено, что условия для длительного хранения грибов разных таксономических групп имеют существенные различия [6]. В связи с этим возникает необходимость в совершенствовании способов длительного хранения штаммов микромицетов.

Хранение культур мицелиальных грибов осуществляли дублировано, несколькими способами. Для криоконсервации микромицетов опробовали три криопротектора следующих составов: 10 % водный раствор глицерина; 10 % водный раствор диметилсульфоксида; 10 % водный раствор глицерина с добавлением 5% лактозы.

Контрольные высевы после закладки на хранение в жидкий азот 5-ти штаммов: *Calcarisporium arbuscula*, *Clonostachys candelabrum*, *Paecilomyces coleopterorum*, *Arthrobotrys oligospora*, *Torubiella homopterorum* показали, что заложенные на хранение в жидкий азот культуры оказались одинаково жизнеспособными, различия в макро- и микроморфологии культур не наблюдали, независимо от вида, использованного при консервации кроиопротектора. В дальнейшем, для работы использовали в качестве криопротектора 10 % водный раствор глицерина с добавлением 5% лактозы.

Для сублимационного высушивания грибных культур в качестве защитной среды использовали 10 % раствор сахарозы с 1,5 % желатины или 10 % обезжиренное молоко. При проверке жизнеспособности разницы при использовании обеих защитных сред не наблюдали. Все культуры, образующие конидии, успешно сохраняли в лиофилизированном виде, кроме некоторых отдельных видов, представленных в таблице 5. При контрольных посевах культуры *Lecanicillium aphanocladii*, *L. longisporum*, *Caetomium globosum*, *Paecilomyces borysthenicus*, *P. marquandii* дольше сохраняли жизнеспособность при хранении на ионообменной смоле, чем высушенные лиофильно.

В лиофилизированном виде не удалось сохранить и грибы семейства *Entomophthorales*, что подтверждается данными других исследователей. Иванушкина с соавторами отмечают, что грибы *Conidiobolus coronatus*, *C. obscurus*, *C. thromboides* и др. теряют жизнеспособность в процессе лиофилизации даже при наличии обильного спороношения [7]. Humber также отмечает, что энто-

мофторовые грибы плохо сохраняются в лиофилизированном виде [8].

Табл. 2. Сравнение жизнеспособности микромицетов, заложенных на хранение двумя способами

Штаммы микромицетов	Способ хранения			
	В лиофилизированном виде		На смоле	
	Срок наблюдения (мес.)	Наличие роста	Срок наблюдения (мес.)	Наличие роста
<i>Lecanicillium aphanocladii</i> , F- 252	56	—	90	+
<i>Lecanicillium longisporum</i> , F- 224	56	—	84	+
<i>Chaetomium globosum</i> , F- 51	86	—	96	+
<i>Paecilomyces borysthenicus</i> , F- 1063	36	—	41	+
<i>Paecilomyces marquandii</i> , F- 266	45	—	82	+

Достаточно простым в применении является метод хранения культур в высушенном состоянии на адсорбентах. В качестве носителей и адсорбентов используют почву, кварцевый песок, вату, фильтровальную бумагу и др. Но имеются данные о том, что некоторые грибы при хранении в почве сохраняли жизнеспособность очень непродолжительное время. Отдельные виды *Penicillium* утрачивали способность образовывать склероции и клейстокарпии [9, 10]. Кроме того, указанные носители плохо поддаются стандартизации и полученные с их использованием результаты трудно воспроизводимы. Чаще используется контактно-сорбционное обезвоживание с применением стандартных искусственных сорбентов – силикагеля [7] и ионообменной смолы для бактерий.

В исследовании применили способ высушивания микроскопических грибов на ионообменной смоле. Использовали смолу с высокой влагоёмкостью марки КБ4-П2 (Na⁺-форма). Данная смола является высокомолекулярным органическим адсорбентом (катионитом), в состав которого входят функциональные группы кислотного характера, участвующие в реакциях катионного обмена [11]. Для хранения грибных культур применили методику контактно – сорбционного обезвоживания (КСО), разработанную сотрудниками ГНЦ ПМБ для хранения бактериальных штаммов [12].

Использованный способ контактного обезвоживания грибных культур с применением ионообменной смолы наряду с хранением на силикагеле может быть применен для длительного сохранения многих видов грибов. В коллекции «ГКПМ-Оболensk» на ионообменной смоле сохраняются культуры 120 видов 61 рода. К преимуществам данного метода следует отнести низкую себестоимость, так как метод не требует применения дорогостоящего оборудования; возможность хранения при температуре 4°С; компактность хранящегося материала; длительность промежутков между перезакладками на новые сроки; удобство при пересылке

культур. Простота метода позволяет использовать его и в полевых условиях для хранения выделенных грибных изолятов. Показана также возможность применения этого метода для длительного хранения (не менее 3,5 лет) аскоспор рода *Cordyceps*, собранных в полевых условиях.

Список литературы

1. Papierok B., Hajek A.E., Lacey L.A. Fungi: Entomophthorales // *Manual of Techniques in Insect Pathology*. – London: Academic Press. – 1997. – P.187-212.
2. Томилова О. Г., Усова О. Н., Штерншис М. В. Модификация среды для культивирования энтомопатогенных грибов Современная микология в России.: тез. докл. первого съезда микологов России. – М., 2002. – С. 214.
3. Саттон Д. Определитель патогенных и условно патогенных грибов / Д. Саттон, А. Фотергилл, М. Ринальди. – М.: Мир, 2001. – 468 с.
4. Holdom D.G. In vitro culture of the aphid pathogenic fungus, *Entomophthora planchoniana* (Zygomycetes: Entomophthorales) // *Journal of Australian Entomology Society*. – 1983. – Vol. 22. – P. 188.
5. Кашкин П.Н., Хохряков М.К., Кашкин А.П. Определитель патогенных, токсикогенных и вредных для человека грибов –Л.: Медицина, 1979. – 270 с.
6. Lastra L.C., Hajek A.E., Humber R.A. Comparing methods of preservation for cultures of entomopathogenic fungi. *Canadian Journal of Botany*. – 2002. – Vol. 80. – P. 1126-1130.
7. Иванушкина Н.Е., Кочкина Г.А., Ерёмкина, Озерская С.М. Опыт использования современных методов длительного хранения грибов во Всероссийской коллекции микроорганизмов. Микология и фитопатология. – 2010. – Т. 44. – С. 19-30.
8. Humber R.A., Lacey L.A. Fungi: preservation of cultures // *Manual of Techniques in Insect Pathology*. – London: Academic Press, 1997. – P. 269-280.
9. Кузнецов В.Д., Лягина Н.М., Сорокина Е.И., Абызова Л.Ф. Некоторые вопросы хранения культур актиномицетов и грибов в лабораторные условия Микробиология. – 1962. – Т. XXXI. – С. 731.
10. Супрун Т.П. О хранении микроскопических грибов в стерильной почве/ Микробиология. – 1965. – Т. XXXIV. – С. 556.
11. Ольшанова К.М., Потапова М.А., Копылова В.Д., Морозова Н.М. Руководство по ионообменной, распределительной и осадочной хроматографии. – М.: Химия, 1965. – 200 с.
12. Вирысов С.Н., Перельгин В.В., Биркина Ю.С. Пат. SU 1831498 A3 (С 12 N 1/04) Способ контактной сушки микроорганизмов / – № 5000377/13; заявл. 15.08.91, опубл. 30.07.93, Бюл. №

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ КАТЕХОЛ-1,2-ДИОКСИГЕНАЗ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ДОНОРА И ИНГИБИТОРА СИНТЕЗА МОНООКСИДА АЗОТА ПРИ СТРЕССОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

Лощинина Е.А.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ СНИЦ РАН, Саратов

Сигнальное соединение монооксид азота (NO) играет важную роль в метаболизме грибов, участвуя в процессах роста, развития, размножения, патогенеза и адаптации к окружающей среде [1, 2]. Функции и метаболизм этого вещества у грибов, в особенности у базидиальных, до сих остаются малоисследованными по сравнению с другими организмами. Установлено, что вещества, регулирующие содержание NO в грибах, одновременно влияют на накопление биомассы, морфогенез, плодоношение и биосинтез других соединений, в том числе стрессовых [3-7].

К числу метаболитов, принимающих у грибов участие в защитных и адаптационных процессах, принадлежат ферменты, разрушающие фенольные соединения. Диоксигеназами называются ферменты класса оксигеназ, катализирующие реакции, при которых в молекулу органического субстрата включаются оба атома молекулы кислорода. Катехолдиоксигеназы – это негемовые железосодержащие диоксигеназы, расщепляющие кольцо катехола, встраивая в молекулу два атома кислорода. Одним из наиболее важных ферментов этой группы является катехол-1,2-диоксигеназа (пирокатехаза), катализирующая расщепление ароматического кольца катехола с образованием *cis,cis*-муконовой кислоты. В последнее время диоксигеназы начали привлекать внимание исследователей благодаря своему потенциалу для использования в биоремедиации районов, загрязненных ароматическими ксенобиотиками [8]. Недостаточная исследованность катехолдиоксигеназ и

путей регуляции их биосинтеза у базидиомицетов делает их важным объектом для изучения.

Целью настоящей работы явилось исследование влияния соединений, регулирующих уровень NO, на активность катехол-1,2-диоксигеназ культивируемых ксилотрофных базидиальных грибов *Lentinus edodes* и *Grifola frondosa* при выращивании в условиях абиотических и биотических стрессов.

В настоящей работе были использованы культуры базидиомицетов *L. edodes* (Berk.) Pegler, штамм F-249 и *G. frondosa* (Dicks.) Gray, штамм 0917. Грибы выращивали в погруженной культуре при 26°C на синтетической среде с 9 г/л глюкозы и 1.5 г/л L-аспарагина (контроль). В качестве абиотических стрессорных факторов использовали тепловой (50°C) и холодовой (5°C) 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). В качестве биотического стрессора использовали совместное выращивание грибов с бактериями *Azospirillum brasilense* Sp7. Донор NO нитропруссид натрия (SNP) и ингибитор синтеза NO гидроклорид метилового эфира нитроаргинина (L-NAME) вносили в среду в конечной концентрации 0.5 мМ. Активность катехол-1,2-диоксигеназы (EC 1.13.11.1) в образцах определяли спектрофотометрически при 260 нм по скорости образования *cis,cis*-муконовой кислоты [9]. Содержание белка определяли по методу Бредфорд [10].

При всех исследованных нами условиях добавление SNP в среду вызывало увеличение удельной активности

пирокатехазы как в культуральной жидкости, так и в мицелии обоих видов грибов. Под действием L-NAME активность фермента снижалась или оставалась на прежнем уровне.

В культуральной жидкости *L. edodes* под влиянием SNP удельная активность катехол-1,2-диоксигеназы возрастала на 65% при температурном стрессе, на 50% при совместном культивировании с *A. brasilense* и на 30-50% на обедненных средах (рис. 1). Для мицелия *L. edodes* разница между бедными средами и температурным шоком оказалась менее выраженной. В условиях холодного и теплового стресса активность фермента возрастала на 35%, а на бедных средах – на 15-30% (рис. 2). Значительно сильнее активность пирокатехазы в мицелии *L. edodes* увеличивалась под действием SNP при совместном культивировании с азоспириллой – на 150%.

Напротив, добавление в среду культивирования *L. edodes* L-NAME приводило к снижению активности катехол-1,2-диоксигеназы, что наиболее сильно проявилось при холодном шоке (вдвое по сравнению с контролем в культуральной жидкости и в полтора раза в мицелии). В других вариантах опыта снижение активности пирокатехазы под действием L-NAME было менее выраженным, а в мицелии *L. edodes*, выращенном на среде 2, оставалось на уровне контроля без внесения L-NAME.

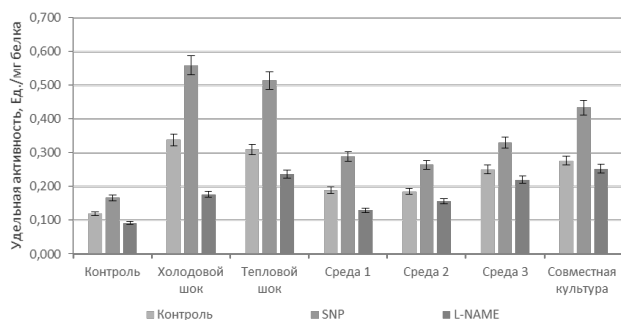


Рис. 1. Активность катехол-1,2-диоксигеназы в культуральной жидкости *L. edodes*

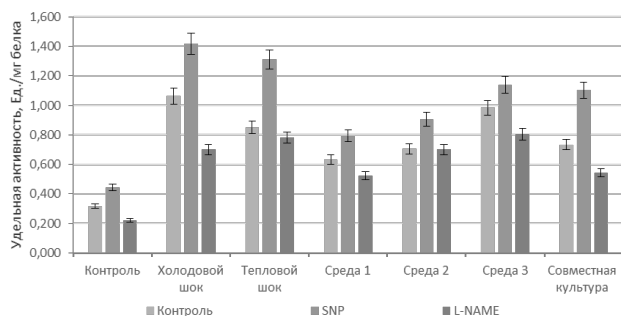


Рис. 2. Активность катехол-1,2-диоксигеназы в мицелии *L. edodes*

Влияние SNP и L-NAME на активность катехол-1,2-диоксигеназы в культуральной жидкости *G. frondosa* проявилось в меньшей степени, чем у *L. edodes*. Наибольшее увеличение ферментативной активности под влиянием SNP наблюдалось в совместной культуре – на 60%, а при температурном стрессе и на среде 3 – на 25-30% (рис. 3). В мицелии *G. frondosa* активность пирокатехазы под действием SNP повышалась на 35-45% при температурном стрессе и на среде 3, а в двойной культуре с *A. brasilense* – на 70% (рис. 4). Под действием L-NAME активность пирокатехазы в культуральной жидкости *G. frondosa* заметно снижалась в условиях холодного стресса (на 45%) и в меньшей степени тепло-

вого. В мицелии *G. frondosa* активность фермента повышалась на 35-45% при температурном шоке и на среде 3. Ингибирующее влияние L-NAME сильнее всего проявилось также при температурном стрессе (на 40-45%).

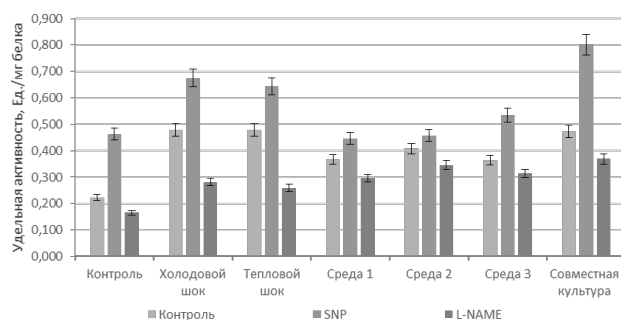


Рис. 3. Активность катехол-1,2-диоксигеназы в культуральной жидкости *G. frondosa*

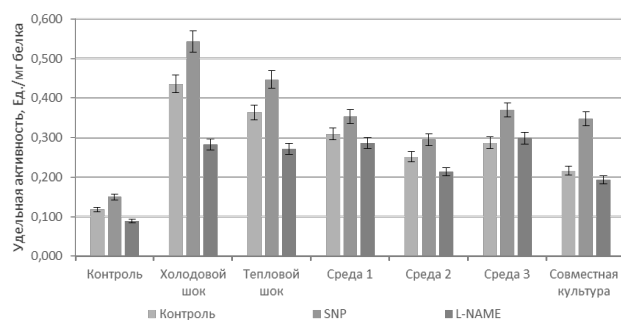


Рис. 4. Активность катехол-1,2-диоксигеназы в мицелии *G. frondosa*

Таким образом, мы исследовали влияние соединений, регулирующих синтез монооксида азота (NO), на активность катехол-1,2-диоксигеназ глубинных культур *L. edodes* и *G. frondosa* в абиотических и биотических стрессовых условиях. Было показано, что ферментативная активность возрастает под влиянием донора NO SNP и снижается под влиянием ингибитора NO-синтазы L-NAME. Изменения пирокатехазной активности особенно сильно проявились в условиях температурного стресса. Влияние SNP и L-NAME на активность грибных пирокатехаз при воздействии стрессоров может указывать на участие NO в процессах регуляции катехолдиоксигеназной ферментной системы, активирующейся под влиянием негативных условий окружающей среды. Исследование регуляции активности грибных катехолдиоксигеназ не только представляет теоретический интерес для углубленного понимания метаболических процессов, протекающих в грибной клетке при формировании ответных реакций на стрессовые воздействия различной природы, но и имеет практическую значимость в связи с потенциалом использования этих ферментов для биоремедиации, деградации фенольных поллютантов и утилизации промышленных отходов.

Список литературы

1. Cánovas D., Marcos J.F., Marcos A.T., Strauss J. Nitric oxide in fungi: is there NO light at the end of the tunnel? // Curr. Genet. 2016. Vol. 62. P. 513-518.
2. Филиппович С.Ю., Бачурина Г.П. Оксид азота в метаболизме грибов (обзор) // Прикл. биохим. микробиол. 2021. Т. 57, № 6. С. 536-548.
3. Wang J., Higgins V.J. Nitric oxide has a regulatory effect in the germination of conidia of *Colletotrichum coccodes* // Fungal Genet. Biol. 2005. Vol. 42. P. 284-292.

4. Xu L.-L., Lai Y.-L., Wang L., Liu X.-Z. Effects of abscisic acid and nitric oxide on trap formation and trapping of nematodes by the fungus *Drechslerella stenobrocha* AS6.1 // Fungal Biol. 2011. Vol. 115. P. 97-101.
5. Kong W.-W., Huang C.-Y., Chen Q., Zou Y.-J., Zhao M.-R., Zhang J.-X. Nitric oxide is involved in the regulation of trehalose accumulation under heat stress in *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis* // Biotechnol. Lett. 2012. Vol. 34. P. 1915-1919.
6. Gu L., Zhong X., Lian D., Zheng Y., Wang H., Liu X. Triterpenoid biosynthesis and the transcriptional response elicited by nitric oxide in submerged fermenting *Ganoderma lucidum* // Process Biochem. 2017. Vol. 60. P. 19-26.
7. Zhao Y., Yuan W., Sun M., Zhang X., Zheng W. Regulatory Effects of Nitric Oxide on Reproduction and Melanin Biosynthesis in Onion Pathogenic Fungus *Stemphylium eturmiunum* // Fungal Biol. 2021. Vol. 125, № 7. P. 519-531.
8. Guzik U., Hupert-Kocurek K., Wojcieszynska D. Intradiol dioxygenases – the key enzymes in xenobiotics degradation // Biodegradation of Hazardous and Special Products. 2013. Vol. 7. P. 129-53.
9. Nakazawa T., Nakazawa, A. [64] Pyrocatechase (pseudomonas) // In: Methods in enzymology. – Academic Press. 1970. Vol. 17. P. 518-522.
10. 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. Vol. 72. P. 248-258.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕТЕРОГЕННОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ФОСФОЛИПИДОВ В КУЛЬТУРЕ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА *SPARASSIS CRISPA*

Манжиева¹ Б.С., Сеник С.В.¹, Серебряков Е.Б.², Котлова Е.Р.¹

¹ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

² Ресурсный центр «Методы анализа состава вещества» СПбГУ, Санкт-Петербург

Фосфолипиды являются важными структурными компонентами клеточных мембран. Они определяют физические свойства мембран и связанные с мембранами процессы, такие как везикулярный транспорт, слияние и деление [1]. Кроме того, глицерофосфолипиды (ГФЛ) являются вторичными мессенджерами при передаче сигнала и влияют на структуру и функции белков. В частности, некоторые из них выступают в роли шаперонов и модуляторов транспортных белков, рецепторов, ионных каналов и ферментов [2].

Огромное структурное разнообразие ГФЛ возникает вследствие комбинаций двух жирных кислот, длина которых варьирует в основном от 16 до 24 атомов углерода и степени ненасыщенности, связи в положении sn-1 основной цепи глицерина (ацил, алкил или алкенил) и полярной головной группы [3]. В зависимости от головной группы ГФЛ разделяют на несколько классов, среди которых основными ГФЛ в мембранах грибов являются фосфатидилхолины (ФХ) и фосфатидилэтаноламины (ФЭ), тогда как – фосфатидилинозитолы, фосфатидилсерины, фосфатидилглицерины и фосфатидные кислоты (ФК) представлены в меньшем количестве [4]. В последние годы с развитием липидомики стали накапливаться сведения о роли молекулярной структуры ГФЛ в определении функций липидов, в том числе в полярном росте и морфогенезе.

Целью работы стало определение связи молекулярного профиля основных классов ГФЛ грибов с процессами роста на примере изучения молекулярного разнообразия и распределения мембранных фосфолипидов в разных зонах колонии поверхностной культуры грибов.

Объектом исследования был выбран штамм базидиального гриба *Sparassis crispa* (Wulfen: Fr.) Fr. LE-BIN 1483 из Коллекции культур базидиомицетов Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН. Штамм выращивали на сусло-агаре в виде поверхностной культуры при 25°C в темноте в течение 30 суток. Колонию гриба *Sparassis crispa* разделили на 3 зоны: периферическую (около 1 см от края), для которой характерен полярный рост и неветвящиеся гифы, среднюю (около 1.5 см шириной) с

переплетенными гифами и центральную (около 2 см в диаметре), где мицелий более плотный и по всей толще которого наблюдаются шарообразные агрегации гиф. Мицелий снимали для дальнейшей экстракции липидов – изопропанолом и изопропанолом-хлороформом (1:1) согласно Nickols et al. [5], после чего выделяли из липидного экстракта отдельные классы фосфолипидов с помощью двумерной ТСХ по Bening et al. [6].

Структурное разнообразие молекулярных видов фосфолипидов определяли с помощью LC-MS/MS анализа методом MRM на масс-спектрометре с тройным квадруполом Shimadzu LCMS-8030 (Shimadzu, Япония). Для обработки полученных липидомных данных и их количественного анализа была использована программа Skyline.

Анализ липидомных данных позволил определить 26 молекулярных видов ФХ, содержащих жирные кислоты C14, C15, C16, C17, C18, C20 и C22 ряда – насыщенными или с 1–3 двойными связями. Особенностью профилей ФХ являлось наличие двух доминирующих молекулярных видов – 18:1/18:2 ФХ и 18:2/18:2 ФХ, в то время как профили ФЭ содержали меньше молекулярных видов – всего 16, 5 из которых содержались в равном количестве.

Выявлена локальная гетерогенность состава основных классов ФГЛ в разных зонах колонии гриба. В краевой зоне, представленной молодыми, полярно растущими гифами, отмечено увеличение доли 18:2/18:2; 18:0/18:2 ФХ. В частности, 18:2/18:2 ФХ в растущем крае составлял 30% от суммы молекулярных видов ФХ, что в 2 раза больше, чем в средней и центральной зонах колонии. В центральной зоне колонии, наоборот, накапливались более насыщенные молекулярные виды, в том числе 18:1/18:1 ФХ, не свойственный процессам полярного роста. Увеличение степени ненасыщенности ацильных групп ГФЛ в направлении к краю колонии наблюдалось также в составе ФЭ и ФК. Кроме того, в краевой зоне накапливался 16:0/18:2 ФЭ. Увеличение содержания C18:2 кислоты в составе фосфолипидов может быть связано с участием линолевой кислоты в синтезе различных оксипиринов, которые являются естественными регу-

ляторами развития грибов и влияют на процессы дифференцировки и морфогенез, поддерживают липидный гомеостаз [7]. Другое объяснение может быть связано с участием определённых молекулярных видов липидов в образовании липидных рафтов и липид-белковых взаимодействиях, опосредующих процессы полярного роста.

Исследование проводилось с использованием оборудования ресурсного центра СПбГУ «Методы анализа состава вещества».

Список литературы

1. Renne M.F.; de Kroon, A.I.P.M. The role of phospholipid molecular species in determining the physical properties of yeast membranes. *FEBS Lett.* 2018, 592, 1330–1345.
2. McMaster C.R. From yeast to humans—Roles of the Kennedy pathway for phosphatidylcholine synthesis. *FEBS Lett.* 2017, 592, 1256–1272.
3. Harayama T., Riezman H. Understanding the diversity of membrane lipid composition // *Mol. Cell Biol.* 2018. № 19. P. 281–296.
4. Raghunathana K.; Kenworthy A. Dynamic pattern generation in cell membranes: Current insights into membrane organization. *BBA Biomembr.* 2018, 1860, 2018–2031.
5. Nichols, B.W. Separation of the lipids of photosynthetic tissues: Improvements in analysis by thin-layer chromatography. *Biochim. Biophys. Acta* 1963, 70, 417–425.
6. Benning, C.; Huang, Z.H.; Gage, D.A. Accumulation of a novel glycolipid and a betaine lipid in cells of *Rhodobacter sphaeroides* grown under phosphate limitation. *Arch. Biochem. Biophys.* 1995, 317, 103–111.
7. Fischer G.J., Keller N.P. Production of cross-kingdom oxylipins by pathogenic fungi: An update on their role in development and pathogenicity // *J. Microbiol.* 2016. vol. 54. № 3. P. 254–264.

СРАВНЕНИЕ ЛЕКТИНОВОЙ АКТИВНОСТИ ГРИБОВ *ASPERGILLUS NIGER* F-4815D И F-4816D. ВЛИЯНИЕ НА МОРФОЛОГИЮ ЭТИХ ШТАММОВ ОРГАНИЧЕСКОГО КОМПОНЕНТА СРЕДЫ.

Миндубаев А.З.¹, Клементьев С.В.¹, Кобелев А.В.¹, Минзанова С.Т.².

¹ Казанский национальный исследовательский технологический университет (КНИТУ КХТИ)

² Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН, Казань

Нами впервые в мире наблюдался рост микроорганизмов в культуральных средах, содержащих белый фосфор в качестве единственного источника фосфора [1, 2]. В процессе исследований были обнаружены новые штаммы гриба, идентифицированного как черный аспергилл [3]. Источником этих уникальных организмов стала емкость с кусковым белым фосфором, погруженным в толщу воды.

Но микроорганизм, при помощи которого осуществляем биодеградацию, сам является интересным объектом изучения. В частности, для внедрения в практику методов применения штамма необходимо знать его воздействие на окружающую среду и организм животных – степень риска для человека. А токсичность, патогенность и аллергенность микроорганизмов во многом связаны с лектинами – классом гликопротеинов, способных к высокоспецифичному связыванию с молекулами биополимеров.

В данной работе как раз и были начаты эти исследования, в частности, исследовалась агглютинация эритроцитов кролика. Но активность лектинов не сводится только к опасности штамма. Лектины могут проявлять специфичность к биополимерам бактерий, вирусов, низших эукариот, раковых клеток. То есть, стать ключом к пониманию новых свойств штамма, не связанных с биодеградацией. Штамм может стать основой создания новых лекарственных и ветеринарных препаратов, биопрепаратов для борьбы с вредителями сельского хозяйства. Это направление исследований, безусловно, интересно и имеет практическую значимость.

Следует также иметь в виду, что ряд лектинов выполняет в организмах регуляторные функции [74]. Соответственно, должны влиять на биодеградацию – главный предмет наших исследований. К примеру, выделив спектр лектинов, вырабатываемых аспергиллами [75] в ответ на воздействие белого фосфора и добавляя их в культуральные среды, не содержащие данное вещество, можно искусственно вызвать у культур грибов реакции ответа на присутствие белого фосфора (либо

других загрязнителей) в среде. Это будет полезно при промышленном культивировании штаммов и создании микробных (ферментных) препаратов для ликвидации загрязнений.

Для культивирования *Aspergillus niger* AM1 ВКМ F-4815D и AM2 ВКМ F-4816D использовалась среда Сабуро. Глюкозу в культуральных средах заменили на полисахарид цитрусовый пектин марки Classic CS 401 (Herbstreith & Fox, Германия). Пектин перед применением переосадили для освобождения от примеси декстрозы.

Замена в культуральной среде глюкозы пектином приводит к радикальному изменению морфологии колоний грибов. Если в присутствии глюкозы мицелий растет в виде рыхлых хлопьев, то в присутствии пектина он приобретает форму плотных гранул, размером и формой похожих на рисовое зерно. То есть, морфология описанных нами штаммов в значительной степени зависит от состава среды. Возникла идея высевать грибы не спорами, а этими «гранулами» (рис. 1).

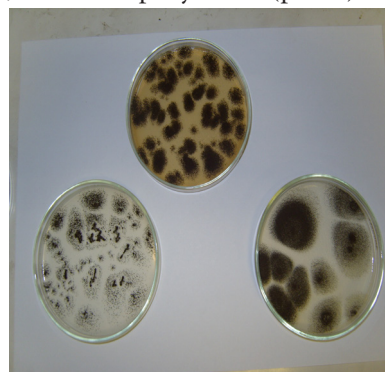


Рис.1. Рост культуры *A. niger* AM1 в культуральной среде с глюкозой (слева) и цитрусовым пектином (справа) в качестве углеводного компонента. Хорошо видны различия морфологии колоний.

Исследование лектиновой активности на хлорелле с клеточной стенкой из целлюлозы показало сильную

активность, как внеклеточную, так и внутриклеточную. Из-за наличия клеточной стенки водоросль не самый удачный объект. Тем не менее, показана четкая разница лектиновой активности двух штаммов. У F-4816D сильная активность, как внеклеточная, так и внутриклеточная. У F-4815D она слабая, в серии разведений проявляется только в первой лунке.

Исследование на эритроцитах кролика показало, что лектины наших грибов обладают выраженной гемолитической активностью. Это свидетельствует о токсичности для млекопитающих, в том числе людей. Наибольшей активностью обладает культуральная среда, очищенная от взвешенных частиц фугованием. Лектины наших грибов демонстрируют гемолиз до 6-9 рядов лунок, а разрушение клеток хлореллы, покрытых клеточными стенками, до 2 ряда. В каждом последующем ряду лунок концентрация среды и, соответственно, лектинов, падает вдвое.

Полученные результаты можно увидеть в таблице 1.

Табл. 1.

		Чапека (30-35 дней)		Сабуро (5 дней)		
Типы клеток	Виды	Биомасса	Натив.р	Биомасса	Натив.р	
Клетки <i>Chlorella</i> sp.	F-4815D	0*	1	0	1	Свежие культуры
	F-4816D	1	2	1	2	
	F-4816D	нет#	1	6	8	
Эритроциты	F-4815D	нет	1	7	9	Заморозка (10 дней)
	F-4816D	нет	1	7	9	

0* - количество лунок в которых наблюдается агрегация (склеивание) эритроцитов / клеток водорослей.
нет# - реакция агреггтинация не проводилась.
Температура заморозки -16 – -18°C.

У F-4816D активность лектинов выше, чем у F-4815D. В среде Сабуро активность лектинов через 5 суток была в 8-9 раз выше, чем в среде Чапека через 30-35 суток. Это связано не только с приростом биомассы, но и, по-видимому, с усилением выработки лектинов. Высокая гемолитическая активность свидетельствует о токсичности для человека.

Это может стать помехой в использовании для биодеградации. Зато, открывает перспективы создания на основе штаммов лекарственных препаратов (антибактериальных, противогрибковых, возможно, даже противоопухолевых), сельскохозяйственных препаратов для борьбы с вредителями. Планируется исследование активности против бактериальных и грибковых культур [4].

Показано, что лектины из исследуемых культур выдерживают однократную заморозку на 10 дней. После второй заморозки их активность резко снижается. Вероятно, белковые молекулы лектинов повреждаются кристаллами льда, но при слабых повреждениях их нативная структура сохраняется.

Объекты наших исследований, штаммы *A. niger* F-4815D и F-4816D, являются эффективными деструкторами токсичных промышленных загрязнителей. Однако, проведенное исследование показало, что этим их

возможности не ограничиваются. Вполне возможно создание медицинских и ветеринарных биопрепаратов, а также биопрепаратов для защиты растений.

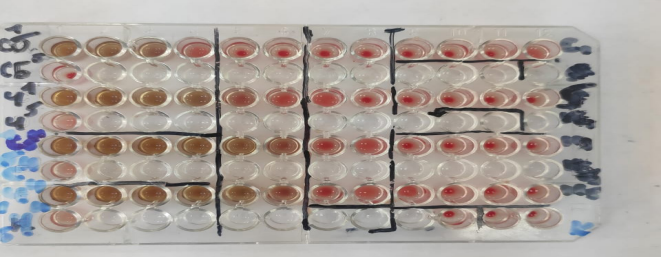


Рис. 2. Гемолиз эритроцитов кролика. Разрушение мембран эритроцитов лектинами приводит к окислению входящего в состав гема железа и изменению окраски с кроваво-красной до бурой.

Список литературы

1. Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г., Акосах Й.А. Биологическая деградация желтого (белого) фосфора - вещества первого класса опасности . Журнал неорганической химии. 2021. Т.66. №8. С.1137-1142. (BAK). DOI: 10.31857/S0044457X21080158

2. Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Минзанова С.Т. Новый объект биодеструкции: белый фосфор . Современная микология России. 2022. Т.9. Материалы Пятого Съезда Микологов России. М.: Национальная академия микологии. С.348-350. DOI: 10.14427/cmr.2022.ix.09

3. Миндубаев А.З., Федосимова С.В., Григорьева Т.В., Романова В.А., Бабаев В.М., Бузюрова Д.Н., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г., Акосах Й.А., Караева Ю.В. 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

4. Миндубаев А.З., Клементьев С.В., Кобелев А.В., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г., Бабынин Э.В., Антех Д.Д. Активность лектинов *Aspergillus niger* AM1 и AM2 . Бултеровские сообщения. 2022. Т.72. №12. С. 117-129. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/22-72-12-117

РЕВИЗИЯ РОДА *ENTOLOMA* (ENTOLOMATACEAE, AGARICOMYCETES) РОССИИ В РАМКАХ МЕЖДУНАРОДНОГО ПРОЕКТА ПО ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ ОБОСНОВАННОМУ ПЕРЕСМОТРУ ЕГО ТАКСОНОМИИ

Морозова О.В.

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

В 2022 году вышла в свет монография *Entoloma* (Noordeloos et al., 2022), представляющая собой третий том серии *Fungi Europaei*, посвященный этому роду. Она стала результатом многолетних исследований международной команды микологов под руководством М.Е. Ноорделооса, автора предыдущих двух томов. Особенность настоящего тома состоит в том, что представленные в нём результаты основаны на молекулярно-филогенетических исследованиях и филогенетической концепции вида. Он охватывает подроды *Cyanula*, *Leptonia*, *Nolanea*, *Trichopilus* и группу, соответствующую кладе /*Rhombisporum*. В монографии приведены иллюстрированные описания 211 видов, даны ключи к их определению. Не вошедшие в этот том подразделения рода *Entoloma* предполагается рассмотреть в следующем томе, подготовка которого идёт в настоящее время.

Современные исследования рода *Entoloma* ведутся по следующим основным направлениям:

- ревизия видового состава основных подродов рода *Entoloma* (уточнение видовых концепций на основе филогенетического подхода (секвенирование ITS1-5,8S-ITS2 и LSU областей с последующим филогенетическим анализом), сопоставление морфологических, экологических и молекулярных данных, секвенирование последовательностей ДНК и морфологический анализ типового материала, в необходимых случаях – обозначение лекто-, нео- и эпителипов);

- выяснение филогенетических связей внутри рода, уточнение рангов надвидовых таксонов и их объема, построение современной системы рода.

Серьезной проблемой в изучении рода *Entoloma* является высокая вариабельность морфологических признаков на видовом уровне, часто приводящая к ошибкам в идентификации образцов и излишнему описанию новых видов. И, наоборот, нередко случаи конвергентного сходства между филогенетически удаленными таксонами. Филогенетические исследования выявили значительное количество криптических видов, сходных морфологически, но различающиеся на генетическом уровне, и показали, что многие широко распространённые виды представляют собой комплексы близкородственных таксонов, свидетельствующие о продолжающейся дивергенции в этих группах.

Поступающие новые молекулярные данные выявляют несоответствие между принимаемой ранее морфологической и поддерживаемой современными исследованиями филогенетической концепциями видов. Накопленные к настоящему моменту сведения позволяют переоценить систему признаков, применяющихся в систематике рода. Меняют своё диагностическое значение такие признаки, как наличие хейлоцистид, цвет края пластинки, окраска базидиом, которая может меняться с возрастом и зависеть от условий произрастания организма, а формы с розовыми базидиомами могут встречаться у разных видов. В то же время подтверждается, что геометрия спор – важнейший признак, отражающий филогению рода, хотя их размер у видов может

довольно сильно варьировать. Диагностическое значение показано также для характера поверхности ножки и шляпки и тенденции их изменения с возрастом, распределения пигмента, типа хейлоцистид при их наличии. Использование молекулярно-генетического подхода привело к изменениям в систематике рода – в рамках рассматриваемых подродов описаны 13 новых секций и 32 новых подсекции (Morozova et al., 2014; Noordeloos et al., 2022; Reschke et al., 2022; Dima et al., 2023).

Материалом для изучения разнообразия рода *Entoloma* в России послужил обширный гербарный материал, как собственный, так и собранный коллегами по всей территории страны. Информация по находкам включена в общую базу данных проекта и используется в анализе. Это молекулярные данные по 104 видам из рассматриваемых здесь подродов, описания и иллюстративный материал к ним.

В ходе подготовки монографии были пересмотрены концепции и объем многих видов, какие-то из них сведены в синонимы, какие-то оказались двусмысленными или сомнительными, и, кроме того, описано значительное число новых для науки видов, из которых 20 представлены типовыми образцами различного статуса с территории России.

В представленной таблице (таблица 1) показано соотношение между составом видов, рассматриваемых в монографии (Noordeloos et al., 2022), и данными по России: а – опубликованными на 2022 год, б – верифицированными молекулярными методами в рамках проекта. Интересно, что число опубликованных видов и верифицированных практически одинаково, хотя списки в силу указанных выше причин перекрываются только наполовину. Приходится отметить, что число видов, зарегистрированных в России, получилось вдвое меньшим, чем в Европе, что говорит о ещё недостаточной изученности этой группы в нашей стране. В то же время эти списки также перекрываются не полностью. В России практически не встречаются средиземноморские виды, недостаточно выявлено разнообразие арктоальпийских. В то же время значительная часть обитающих на Дальнем Востоке России видов не распространяется далее в Сибирь и Европу. С этой территории уже описан ряд новых для науки видов, а 20, не вошедших в указанное число, ещё предстоит описать.

Таксономическая ревизия рода *Entoloma* продолжается. С одной стороны, в рамках проекта идёт работа по уточнению видовых концепций в пределах подродов, не вошедших в опубликованную монографию, с другой – проводится пересмотр разнообразия рода в различных регионах России. Большая протяжённость её территории с севера на юг и с запада на восток даст возможность внести серьёзный вклад в выявление географических закономерностей распределения видов по градиенту изменения природных условий и в уточнение их ареалов.

Табл. 1. Видовое разнообразие подразделений рода *Entoloma* в России по материалам чек-листа агарикоидных и болетоидных грибов (Bolshakov et al., 2022) и представленное в монографии *Entoloma s.l.* (Noordeloos et al., 2022).

Таксоны	Выявленное разнообразие в Европе, количество видов (Noordeloos et al., 2022)	Выявленное разнообразие в России, количество видов	
		а – опубликованные данные (Bolshakov et al., 2022)	б – верифицировано молекулярными методами
Subgenus <i>Cyanula</i>	106	48	48
Subgenus <i>Leptonia</i>	32	18	21
Subgenus <i>Nolanea</i>	50	32	24
/Rhombisporum	13	1	6
Subgenus <i>Trichopilus</i>	8	4	5
Species of uncertain position	1	-	-
Total	211	103	104

Список литературы

1. Noordeloos M.E., Morozova O., Dima B., Reschke K., Jansen G.M., Brandrud T.E., Jordal J.B., Bendiksen E., Vila J. 2022. *Entoloma sensu lato*. Subgenera *Cyanula*, *Leptonia*, *Nolanea*, *Trichopilus*, and the /*Rhombisporum* clade. *Fungi Europaei*, vol. 5b. Edizione Candusso, Italy. 968 p.

2. Morozova O. V., Noordeloos M. E., Vila J. 2014. *Entoloma* subgenus *Leptonia* in boreal-temperate Eurasia: towards a phylogenetic species concept. *Persoonia*. Vol. 32. P. 141–169. DOI: 10.3767/003158514X681774

3. Reschke K., Morozova O.V., Dima B., Dima B., Cooper J.A., Corriol G., Biketova A.Yu., Piepenbring M., Noordeloos M.E. Phylogeny, taxonomy, and character evolution in *Entoloma* subgenus *Nolanea*. 2022. *Persoonia*. V. 49. P. 136–170. DOI:.

4. Dima B., Noordeloos M.E., Morozova O., Jansen G., Reschke K., Brandrud T. E., Vila J. 2023. Nomenclatural novelties. Index Fungorum no. 546

5. 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. *Biological Communications*, 66(4), 316–325. DOI:10.21638/spbu03.2021.404

**РЕВИЗИЯ РОДА *ENTOLOMA* (*ENTOLOMATACEAE*, *AGARICOMYCETES*) РОССИИ
В РАМКАХ МЕЖДУНАРОДНОГО ПРОЕКТА ПО ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ ОБОСНОВАННОМУ
ПЕРЕСМОТРУ ЕГО ТАКСОНОМИИ**

Морозова О.В.¹, Ноорделоос М.Е.², Дима Б.³, Брандруд Т.Э.⁴, Решке К.⁵

¹ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

² Naturalis Biodiversity Center, Leiden, The Netherlands

³ Institute of Biology, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary

⁴ Norwegian Institute for Nature Research, Oslo, Norway

⁵ Goethe University Frankfurt am Main, Frankfurt am Main, Germany

В 2022 году вышла в свет монография рода *Entoloma* (Noordeloos et al., 2022), представляющая собой третий том серии *Fungi Europaei*, посвященный этому роду. Она стала результатом многолетних исследований международной команды микологов под руководством М.Е. Ноорделооса, автора предыдущих двух томов. Особенность настоящего тома состоит в том, что представленные в нём результаты основаны на молекулярно-филогенетических исследованиях и филогенетической концепции вида. Он охватывает подроды *Cyanula*, *Leptonia*, *Nolanea*, *Trichopilus* и группу, соответствующую кладе /*Rhombisporum*. В монографии приведены иллюстрированные описания 211 видов, даны ключи к их определению. Не вошедшие в этот том подразделения рода *Entoloma* предполагается рассмотреть в следующем томе, подготовка которого идёт в настоящее время.

Современные исследования рода *Entoloma* ведутся по следующим основным направлениям:

– ревизия видового состава основных подродов рода *Entoloma* (уточнение видовых концепций на основе фи-

логенетического подхода (секвенирование ITS1-5,8S-ITS2 и LSU областей с последующим филогенетическим анализом), сопоставление морфологических, экологических и молекулярных данных, секвенирование последовательностей ДНК и морфологический анализ типового материала, в необходимых случаях – обозначение лекто-, нео- и эпителипов);

– выяснение филогенетических связей внутри рода, уточнение рангов надвидовых таксонов и их объема, построение современной системы рода.

Серьезной проблемой в изучении рода *Entoloma* является высокая вариабельность морфологических признаков на видовом уровне, часто приводящая к ошибкам в идентификации образцов и излишнему описанию новых видов. И, наоборот, нередко случаи конвергентного сходства между филогенетически удаленными таксонами. Филогенетические исследования выявили значительное количество криптических видов, сходных морфологически, но различающиеся на генетическом уровне, и показали, что многие широко распространён-

ные виды представляют собой комплексы близкородственных таксонов, свидетельствующие о продолжающейся дивергенции в этих группах.

Поступающие новые молекулярные данные выявляют несоответствие между принимаемой ранее морфологической и поддерживаемой современными исследованиями филогенетической концепциями видов. Накопленные к настоящему моменту сведения позволяют переоценить систему признаков, применяющихся в систематике рода. Меняют своё диагностическое значение такие признаки, как наличие хейлоцистид, цвет края пластинки, окраска базидиом, которая может меняться с возрастом и зависеть от условий произрастания организма, а формы с розовыми базидиомами могут встречаться у разных видов. В то же время подтверждается, что геометрия спор – важнейший признак, отражающий филогению рода, хотя их размер у видов может довольно сильно варьировать. Диагностическое значение показано также для характера поверхности ножки и шляпки и тенденции их изменения с возрастом, распределения пигмента, типа хейлоцистид при их наличии. Использование молекулярно-генетического подхода привело к изменениям в систематике рода – в рамках рассматриваемых подродов описаны 13 новых секций и 32 новых подсекции (Morozova et al., 2014; Noordeloos et al., 2022; Reschke et al., 2022; Dima et al., 2023).

Материалом для изучения разнообразия рода *Entoloma* в России послужил обширный гербарный материал, как собственный, так и собранный коллегами по всей территории страны. Информация по находкам включена в общую базу данных проекта и используется в анализе. Это молекулярные данные по 104 видам из рассматриваемых здесь подродов, описания и иллюстративный материал к ним.

В ходе подготовки монографии были пересмотрены концепции и объем многих видов, какие-то из них сведены в синонимы, какие-то оказались двусмысленными или сомнительными, и, кроме того, описано значительное число новых для науки видов, из которых 20 представлены типовыми образцами различного статуса с территории России.

В представленной таблице (таблица 1) показано соотношение между составом видов, рассматриваемых в монографии (Noordeloos et al., 2022), и данными по России: а – опубликованными на 2022 год, б – верифицированными молекулярными методами в рамках проекта. Интересно, что число опубликованных видов и верифицированных практически одинаково, хотя списки в силу указанных выше причин перекрываются только наполовину. Приходится отметить, что число видов, зарегистрированных в России, получилось вдвое меньшим, чем в Европе, что говорит о ещё недостаточной изученности этой группы в нашей стране. В то же время эти списки также перекрываются не полностью. В России практически не встречаются средиземноморские виды, недостаточно выявлено разнообразие арктоальпийских. В то же время значительная часть обитающих на Дальнем Востоке России видов не распространяется далее в Сибирь и Европу. С этой территории уже описан ряд новых для науки видов, а 20, не вошедших в указанное число, ещё предстоит описать.

Таксономическая ревизия рода *Entoloma* продолжается. С одной стороны, в рамках проекта идёт работа по уточнению видовых концепций в пределах подро-

дов, не вошедших в опубликованную монографию, с другой – проводится пересмотр разнообразия рода в различных регионах России. Большая протяжённость её территории с севера на юг и с запада на восток даст возможность внести серьёзный вклад в выявление географических закономерностей распределения видов по градиенту изменения природных условий и в уточнение их ареалов.

Табл. 1. Видовое разнообразие подразделений рода *Entoloma* в России по материалам чек-листа агарикоидных и boletoидных грибов (Bolshakov et al., 2022) и представленное в монографии *Entoloma* s.l. (Noordeloos et al., 2022).

Таксоны	Выявленное разнообразие в Европе, количество видов (Noordeloos et al., 2022)	Выявленное разнообразие в России, количество видов	
		а – опубликованные данные (Bolshakov et al., 2022)	б – верифицированы молекулярными методами
Subgenus <i>Cyanula</i>	106	48	49
Subgenus <i>Leptonia</i>	32	18	21
Subgenus <i>Nolanea</i>	50	32	24
/Rhombisporum	13	1	6
Subgenus <i>Trichopilus</i>	8	4	5
Species of uncertain position	1	-	-
Total	211	103	105

Список литературы

1. Noordeloos M.E., Morozova O., Dima B., Reschke K., Jansen G.M., Brandrud T.E., Jordal J.B., Bendiksen E., Vila J. 2022. *Entoloma* sensu lato. Subgenera *Cyanula*, *Leptonia*, *Nolanea*, *Trichopilus*, and the */Rhombisporum* clade. *Fungi Europaei*, vol. 5b. Edizione Candusso, Italy. 968 p.

2. Morozova O. V., Noordeloos M. E., Vila J. 2014. *Entoloma* subgenus *Leptonia* in boreal-temperate Eurasia: towards a phylogenetic species concept. *Persoonia*. Vol. 32. P. 141–169. DOI: 10.3767/003158514X681774

3. Reschke K., Morozova O.V., Dima B., Cooper J.A., Corriol G., Biketova A.Yu., Piepenbring M., Noordeloos M.E. Phylogeny, taxonomy, and character evolution in *Entoloma* subgenus *Nolanea*. 2022. *Persoonia*. V. 49. P. 136–170. DOI: 10.3767/persoonia.2022.49.04.

4. Dima B., Noordeloos M.E., Morozova O., Jansen G., Reschke K., Brandrud T. E., Vila J. 2023. Nomenclatural novelties. *Index Fungorum* no. 546

5. 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. *Biological Communications*, 66(4), 316–325. DOI: 10.21638/spbu03.2021.404

РОСТОВЫЕ И АНТАГОНИСТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МИЦЕЛИЯ ГРИБА *LAETIPORUS*
SULPHUREUS (BULL.: FR.) MURR

Пучкова Т. А., Максимов А. С., Чжэн Л.
Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Дереворазрушающий гриб трутовик серно-жёлтый (*Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr)) распространён в лесах и лесопарковых насаждениях умеренного климатического пояса Европы, Северной и Южной Америки, встречается в Сибири и Китае. Гриб может существовать сапротрофно на упавшей древесине, а также паразитировать на стволах живых деревьев преимущественно лиственных пород. Он встречается на березе, буке, иве, каштане, осине, тополе и других. Заражение деревьев происходит базидиоспорами гриба через трещины или места повреждения ствола. Мицелий внутри него внешне не заметно разрастается, а через несколько лет на нём при подходящих условиях могут обнаруживаться скопления сросшихся плодовых тел оранжево-жёлтого цвета. Молодые плодовые тела каплевидные, а зрелые - имеют крупную шляпку и расположенную сбоку ножку. Молодые плодовые тела гриба мягкие и съедобные, а взрослые по мере роста приобретают жёсткую консистенцию [1]. *L. sulphureus* по способу разрушения древесины относится к грибам бурой гнили, так как разрушает в первую очередь волокна целлюлозы. Повреждённая древесина разламывается на кусочки призматической формы и темнеет из-за увеличения относительного содержания лигнина. Гриб *L. sulphureus* распространён на всей территории Беларуси. В зелёных насаждениях города Минска сростки этого трутовика встречаются на стволах старых деревьев, особенно произрастающих на берегах водоёмов. Изучение распространения *L. sulphureus* в населённых пунктах и его свойств актуально, так как при по мере разрушения древесины ствол дерева теряет прочность и может упасть при порывах сильного ветра.

Кроме изучения фитопатогенных свойств трутовика серно-жёлтого большой интерес представляет исследование биохимического состава плодовых тел и мицелия, а также их биологической активности. Питательная ценность молодых плодовых тел определяется высоким содержанием незаменимых аминокислот в белках, ненасыщенных жирных кислот (линолевой, олеиновой, пальмитиновой) в липидах, минеральных веществ (кальций, фосфор, магний, натрий, калий, железо, цинк, марганец, медь), витаминов (B, D, E). В плодовых телах и мицелии установлено присутствие иммуностимулирующих полисахаридов и каротиноидов, обладающих антиоксидантным и радиопротекторным действием [2].

В течение 2020 – 2023 годов на территории города Минска плодовые тела трутовика серно-жёлтого встречались на лиственных деревьях родов: *Salix*, *Tilia*, *Populus* и *Prunus*. Чаще всего крупные сростки плодовых тел обнаруживались на стволах деревьев рода *Salix*. Исследуемый штамм *L. sulphureus* выделен в чистую культуру из срезанного с ивы (*Salix alba*) плодового тела. Мицелий гриба поддерживали на агаризованной глюкозо-пептонной питательной среде, где он образовывал хорошо опушённые оранжево-жёлтые колонии высотой 1,5-2 мм. Оптимальная температура роста гриба составляла 25-28 °C.

Целью работы являлось изучение влияния различных субстратов на рост мицелия выделенного штамма гриба *L. sulphureus*, определение его ферментативных

активностей и антагонистического действия по отношению к другим микроорганизмам.

Для изучения влияния на рост источника углерода гриб культивировали на агаризованной глюкозо-пептонной среде с 20 г/л глюкозы (контроль), а также на средах того же состава, в которых глюкозу заменяли на другие углеводы. Рост мицелия на питательных средах оценивали по радиальной скорости роста (K_г) и ростовому коэффициенту (РК) [3].

Установлено, что в качестве источника углерода гриб хорошо рос на глюкозе, сахарозе, мальтозе, крахмале и целлюлозе. Поскольку гриб в природе разрушает древесину, проведена оценка влияния древесных опилок на рост гриба. Их вместо глюкозы вносили в глюкозо-пептонную агаризованную среду в количестве 20 г/л. Контролем служила глюкозо-пептонная среда с глюкозой. На рисунках 1,2 показано влияние древесных опилок на K_г и РК мицелия.

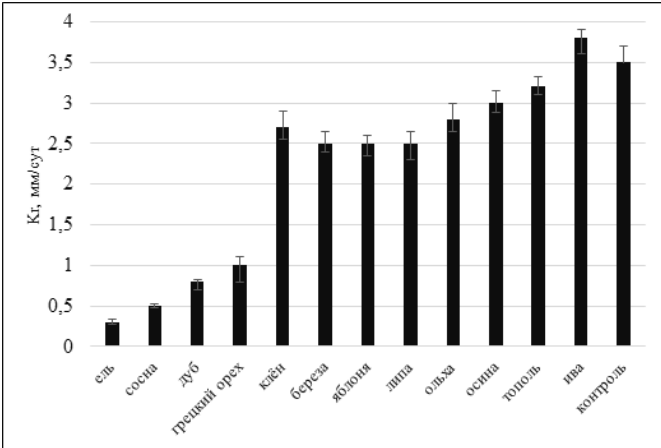


Рис. 1. Радиальная скорость роста мицелия *L. sulphureus* (K_г, мм/сут) на агаризованных питательных средах с добавлением древесных опилок

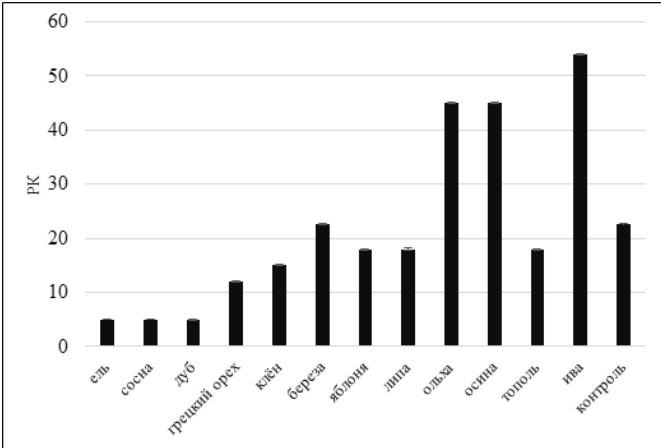


Рис. 2. Ростовой коэффициент (РК) мицелия *L. sulphureus* на агаризованных питательных средах с добавлением древесных опилок

На рисунках 1 и 2 видно, что гриб *L. sulphureus* мог расти на всех вариантах агаризованных субстратов, но они по-разному влияли на его рост. Самое высокое значение K_г наблюдалось на среде с опилками ивы и в контроле с глюкозой. Очень активно гриб рос на среде, где источником углерода являлись опилки ивы. Это можно

объяснить тем, что в естественных условиях плодвое тело, из которого выделили штамм гриба, произрастало на иве. Немного медленнее гриб рос на средах с опилками ольхи, осины, липы, тополя, клёна, берёзы и яблони. Гриб очень плохо рос на опилках хвойных деревьев: ели и сосны. Через некоторое время рост колоний на этих средах прекращался.

Добавление в глюкозо-пептонную среду опилок ивы, ольхи и осины способствовало заметному увеличению высоты и плотности колоний по сравнению с контролем. РК на среде с опилками ивы был выше в 2,4 раза, с опилками ольхи и осины – в 2 раза. Хуже всего гриб рос на средах с опилками дуба, сосны и ели. На них были редкие, паутинистые колонии, РК в 4 раза ниже по сравнению с контролем, что видимо связано с присутствием в опилках ингибирующих рост веществ.

Проведены качественные реакции для определения ферментов, важных для проявления фитопатогенного действия гриба. На среде с карбоксиметилцеллюлозой обнаружена целлюлолитическая активность, с крахмалом – амилолитическая, с сухим молоком – казеинолитическая (протеолитическая), с яичным желтком – лецитиназная. Пектолитической активности на среде с добавлением полипектата натрия не обнаружено.

Методом агаровых блоков проведено изучение антагонистической активности между грибом *L. sulphureus* и грибами *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium chrysogenum*, *Trichoderma viridae*. Для этого на чашку Петри с глюкозо-пептонной средой на один край помещали агаровый блок с мицелием *L. sulphureus*. На противоположный край чашки засевали споры одного из перечисленных грибов. *L. sulphureus* при совместном росте с *A. terreus*, *F. oxysporum*, и *A. alternata* колонизировал агаризованную глюкозопептонную среду практически с той же скоростью или быстрее. Когда колонии двух грибов встречались, мицелий *L. sulphureus* мог начать расти поверх колонии другого гриба и полностью её закрыть. Совместно с другими грибами, такими как *T. viridae*, *A. niger*, *A. flavus* и *P. chrysogenum*, *L. sulphureus* рос на среде медленнее. Мицелии этих грибов быстрее закрывали свободную часть субстрата. Между грибами не наблюдалось зон задержки роста, вызываемых выделением в среду токсичных для грибов метаболитов. Таким образом, при совместном культивировании *L. sulphureus* и других грибов происходила в основном конкуренция за ростовой субстрат.

Проверено наличие антимикробной активности *L. sulphureus* по отношению к бактериям из коллекции кафедры микробиологии БГУ: *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas putida*, *Salmonella typhimurium*, *Sarcina lutea*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus saprophyticus*. Ночные

культуры бактерий с помощью шпателя засевали на поверхность пептон-дрожжевого агара. Затем на эту среду помещали агаровые блоки с *L. sulphureus* вниз мицелием. Через 3 суток культивирования наблюдали рост газона бактерий на чашках. Если вокруг колоний гриба наблюдали задержку роста бактерий, это свидетельствовало о его антибактериальной активности. В проведенных экспериментах у гриба наблюдалась слабая антимикробная активность по отношению к *E. coli*, *St. saprophyticus* и *S. typhimurium*. По отношению к остальным проверенным бактериям антимикробной активности не выявлено.

Для проверки фитотоксичности гриба *L. sulphureus* по отношению к микроскопической водоросли *Chlorella vulgaris* её выращивали на скошенном агаре, готовили суспензию в физиологическом растворе и добавляли её в расплавленную и остуженную минимальную агаризованную среду, которую затем заливали в чашки Петри. После застывания среды на её поверхность помещали вырезанный из агаризованной среды фрагмент колонии гриба размером 10×10 мм мицелием вниз. Чашки инкубировали в термостате в темноте в течение трёх суток, а затем такое же время на свету. Через указанное время на чашках за счет роста хлореллы наблюдалось позеленение среды. Вокруг агарового блока с мицелием гриба наблюдалась зона задержки роста хлореллы. Это указывало на проявление у *L. sulphureus* фитотоксических свойств по отношению к *C. vulgaris*.

Таким образом, исследовано влияние источников углерода на рост выделенного штамма гриба *L. sulphureus*. Показано, что добавление в глюкозо-пептонную среду опилок ивы, ольхи и осины способствовало росту его более плотных и высоких колоний. Исследована антагонистическая активность мицелия *L. sulphureus* по отношению к некоторым грибам - аскомицетам. Показано слабое антимикробное действие по отношению к бактериям *E. coli*, *St. saprophyticus* и *S. typhimurium*. Установлено фитотоксическое действие по отношению к микроскопической водоросли *C. vulgaris*.

Список литературы

1. Luangharna T., Karunarathna S. C., Hydea K. D., Chukeatirotea E. Optimal conditions of mycelia growth of *Laetiporus sulphureus* sensu lato // *Mycology*. – 2014. – Vol. 5, N. 4. – P. 221–227.
2. Sułkowska-Ziaja K., Muszyńska B., Gawalska A., Sałaciak K. *Laetiporus sulphureus* – chemical composition and medicinal value // *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*. – 2018. – Vol. 17, N 1. – P. 87–96.
3. Бухало, А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре / А.С. Бухало. – Киев: Наукова думка, 1988. – 144 с.

ВЛИЯНИЕ СУБМИКРОНЫХ ЧАСТИЦ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СЛОЖНЫХ ОКСИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ГРИБА *ASPERGILLUS NIGER*

Широков Я. Л., Аникина Н. А., Смирнов В. Ф., Корягин А. В

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского

В процессе жизнедеятельности микромицеты выделяют в окружающую среду множество агрессивных экзометаболитов, способных осуществлять биодegradацию промышленных материалов. В этом процессе

немаловажную роль играют органические кислоты, под действием которых быстрой и глубокой деструкции подвергаются многие органические и неорганические субстраты.

Микроскопические грибы способны выделять более 40 различных органических кислот. Чаще всего и в больших количествах плесневые грибы образуют уксусную, янтарную, яблочную, лимонную, глюконовую, молочную, щавелевую кислоты. Кислоты, накапливаясь в среде, ухудшают физико-химические и товарные свойства материалов, делая их непригодными для дальнейшего использования. Кроме этого, органические кислоты могут участвовать в разрушении полимерных материалов за счёт взаимодействия с их структурными компонентами. Конкретные механизмы деструкции полимерных материалов органическими кислотами исследованы пока недостаточно. Однако, не вызывает сомнения, что один из основных путей их разрушающего действия на органические вещества заключается в кислотном катализе различных реакций расщепления [1].

Основным способом защиты материалов от воздействия грибов биодеструкторов на сегодня является использование биоцидов различной природы. Большой интерес в этом плане последнее время вызывают микрочастицы фотокаталитически активных тяжелых металлов и их оксидов. Это связано с тем, что они способны ингибировать жизнедеятельность клеток грибов биодеструкторов. Механизмы воздействия данных соединений на микроорганизмы весьма разнообразны: перекисное окисление липидов мембраны [2], встраивание и разрушение клеточной стенки и мембраны за счет образования ямок и пор [3], конденсация и фрагментация ДНК и, как следствие, изменения экспрессии генов, генерация активных форм кислорода (АФК) под действием света [4], высвобождение митохондриями цитохрома C в цитозоль, приводящее к каскаду апоптоза, деполимеризация рибосом [5]. Кроме того, преимущества использования наночастиц металлов и оксидов металлов в качестве антибактериальных агентов в том, что механизм их действия не позволяет микроорганизмам выработать к ним резистентность.

Большинство изученных фотокаталитически активных оксидов металлов способны к генерации АФК лишь при определенных условиях освещения (например, только под ультрафиолетом). Эта особенность ограничивает применение этих соединений. Исследуемые нами частицы $CsTeMoO_6$ и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ способны к фотокаталитической активности, в частности к образованию активных форм кислорода, под действием света видимого спектра [6]. Это дает потенциал к использованию данных частиц для создания биоцидов и самостерилизующихся поверхностей.

Представляло интерес исследовать возможность регуляции кислотообразующей активности грибов-биодеструкторов с помощью микрочастиц оксидов тяжелых металлов как перспективных биоцидных соединений. **Цель исследования** – изучение воздействия субмикронных частиц фотокаталитически активных оксидов металлов $CsTeMoO_6$ и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ на накопление в среде культивирования органических кислот гриба *Aspergillus niger*.

В качестве объектов исследований использовали субмикронные частицы сложного оксида $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ со средним диаметром частиц 736 нм и сложного оксида $CsTeMoO_6$ со средним диаметром частиц 670 нм. Данные частицы впервые были получены в НИИ Химии ННГУ (г. Н. Новгород). В качестве исследуемых культур использовался *Aspergillus niger van Tieghen* ВКМ F-1119 – биодеструктор промышленных материалов и активный кислотообразователь. В качестве источника светового излучения использовался прожектор мощ-

ностью 50 Вт с поверхностной плотностью потока излучения 524 Вт/м². Качественный и количественный состав органических кислот в культуральной жидкости определяли методом капиллярного электрофореза («КАПЕЛЬ®-105М»). Перечень определяемых кислот: щавелевая, винная, яблочная, лимонная, янтарная, молочная, уксусная кислоты. Для получения вегетативного мицелия *A. niger* культивировали на жидкой среде Чапека-Докса. Затем полученный мицелий пересаживали на свежую жидкую среду Чапека-Докса с навесками исследуемых соединений в концентрации 2 мг/мл (контроль – без частиц). Половина колб, содержащих микрочастицы, с культивируемым грибом помещалась под воздействие света, вторая половина – в условия темноты. Время культивирования - 7 суток. После культуральная жидкость отделялась от мицелия путём фильтрации и анализировалась на органические кислоты методом капиллярного электрофореза. Мицелий просушивался в сушильном шкафу до неизменной массы и взвешивался. Концентрация органических кислот пересчитывалась на грамм сухой массы мицелия.

Табл. 1. Влияние вносимых в среду культивирования фотокаталитически активных субмикронных частиц $CsTeMoO_6$ и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ на продукцию кислот грибом *Aspergillus niger*

Концентрация органических кислот в КЖ, мг/гсм	Контроль (без частиц)	Проба			
		$RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$		$CsTeMoO_6$	
		темнота	свет	темнота	свет
Щавелевая	8,90±0,45	-	12,30±0,62	-	-
Винная	9,84±0,92	2,54±0,13	10,31±0,52	18,70±0,94	12,75±0,64
Яблочная	12,36±0,62	2,44±0,12	-	-	-
Лимонная	45,46±2,27	-	-	20,17±1,01	23,09±1,16
Янтарная	357,58±17,88	118,86±5,94	464,65±23,23	-	-
Молочная	21,30±1,07	4,48±0,22	5,30±0,27	762,42±38,12	1211,33±60,57
Уксусная	99,91±5,00	-	-	-	-
Сумма кислот	555,25±27,76	128,32±6,42	492,56±24,63	801,29±40,07	1247,17±62,36

Ведение в среду культивирования исследуемых частиц $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ привело к уменьшению количества органических кислот в культуральной жидкости: произошло уменьшение содержания органических кислот на 76,89% относительно контроля в условиях темноты, на 11,29% относительно контроля под действием света.

Под действием частиц $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ в условиях темноты наблюдается полное ингибирование синтеза щавелевой, лимонной и уксусной кислоты. Частичное ингибирование синтеза винной, яблочной, янтарной и молочной кислот. Под действием частиц $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ в условиях освещения наблюдается полное ингибирование синтеза яблочной и уксусной кислоты. Так же наблюдается повышение концентрации щавелевой винной и янтарной кислоты относительно контроля.

Под действием же частиц $CsTeMoO_6$ концентрация органических кислот, наоборот, возросла. При этом в условиях темноты наблюдается полное ингибирование синтеза щавелевой, яблочной, янтарной и уксусной кислот. Снижение синтеза лимонной кислоты. Повышение концентрации винной кислоты. Значительное повышение концентрации молочной кислоты относительно контроля (в 3,5 раз). Воздействие частиц $CsTeMoO_6$ на

свету привело к схожим результатам. Заметным отличием стало ещё большее повышение концентрации молочной кислоты относительно контроля (в 5,6 раз)

В заключении можно сказать, что исследуемые субмикронные частицы CsTeMoO_6 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ оказали влияние на содержание органических кислот в культуральной жидкости гриба-биодеструктора *Aspergillus niger*. Влияние $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ привело к уменьшению продукции органических кислот. CsTeMoO_6 оказал противоположное воздействие и увеличило содержание органических кислот в культуральной жидкости. Данные эффекты могут быть обусловлены влиянием как самих частиц, так и образуемых ими АФК на ферментную систему гриба, в частности, на цикл Кребса.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (базовая часть госзадания, проект FSWR-2023-2024). Для проведения исследований использовано оборудование Центра коллективного пользования «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ННГУ им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород).

Список литературы

1. Соломатов В.И., Ерофеев В.Т., Смирнов В.Ф. Биологическое сопротивление материалов. Саранск: Изд-во Морд. ун-та. 2001. – 193 с.
2. Mukherjee K.; Acharya K.; Biswas A.; Jana N.R. TiO_2 nanoparticles co-doped with nitrogen and fluorine as visible-lightactivated antifungal agents. *ACS Appl. Nano Mater.* 2020, 3, 2016–

2025. Kim K.J.; Sung W.S.; Suh B.K. et al. Antifungal activity and mode of action of silver nanoparticles on *Candida albicans*. *Biometals* 2009, 22, 235–242.

3. Kumari M.; Giri V.P.; Pandey S. et al. An insight into the mechanism of antifungal activity of biogenic nanoparticles than their chemical counterparts. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2019, 157, 45–52.

4. Xia Z.K.; Ma Q.H.; Li S.Y. et al. The antifungal effect of silver nanoparticles on *Trichosporon asahii*. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2016, 49, 182–188.

5. Fukina D.G., Koryagin A.V., Zhizhin A.V. et al. The role of surface and electronic structure features of the CsTeMoO_6 β -pyrochlore compound during the photooxidation dyes process. *Journal of Solid State Chemistry*. 2022. V. 308. P. 122939.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ *GANODERMA APPLANATUM* (POLYPORALES, BASIDIOMYCOTA) В МОСКОВСКОМ РЕГИОНЕ

Шнырева А.В., Федорова М.Д.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Древоразрушающие грибы рода *Ganoderma* являются одними из самых распространенных полипоровых грибов в мире, и интерес к их изучению постоянно растет в связи с тем, что они являются продуцентами многих биологически активных соединений. Наиболее распространенным видом средней полосы России является трутовик плоский *G. applanatum*. Изучение внутривидового генетического разнообразия гриба является актуальной задачей, решение которой может способствовать обнаружению интересных с практической точки зрения штаммов и их дальнейшее применение в биотехнологии и фармацевтике. Мы охарактеризовали внутривидовой генетический полиморфизм *G. applanatum* в Московском регионе по половой и соматической (вегетативной) совместимости. Плодовые тела трутовика плоского собирали в различных лесопарках г. Москвы летом и осенью 2022 года и в 2015 году с различных субстратов (37 базидиом). Плодовые тела значительно отличались по макроморфологическим признакам, но были не старше двухлетнего возраста и в основном развивались на мертвой древесине лиственных пород. Разработанная нами методика воссоздания полного жизненного цикла *G. applanatum* в лабораторных условиях, включая получение стерильного фертильного гимения на чашках Петри, позволила провести генетический анализ природного полиморфизма локусов половой совместимости и оценить общее аллельное разнообразие локусов типов спаривания у природных изолятов *G. applanatum*, собранных на ограниченной территории. Для пяти природных изолятов были получены стериль-

ные споровые отпечатки, из которых были выделены монобазидиоспоровые изоляты с целью дальнейшего получения монокариотических (гаплоидных) штаммов-тестеров половой совместимости путем проведения мон-мон скрещиваний (Shnyreva, 2010). Сперва во взаимных внутриштаммовых мон-мон скрещиваниях (для каждого из пяти природных изолята) были выделены монокариотические штаммы-тестеры, различающиеся аллелями локусов половой совместимости (по четыре тестера для каждого природного изолята), как это описано подробно описано в работе (Shnyreva et al., 2019). Далее мон-мон скрещивания проводили уже между монокариотическими тестерами, а именно скрещивали по четыре тестерных штамма от каждого природного изолята, которые различались аллелями локусов половой совместимости (A_xB_x , A_yB_y , A_xB_y , A_yB_x). Ди-мон скрещивания осуществляли между ди-кариотическими природными штаммами и четырьмя монокариотическими тестерами вида *G. applanatum* (тестеры штамма GA-MF8-1) из нашей коллекции. Анализ половой совместимости в мон-мон скрещиваниях подтвердил характерный для грибов рода *Ganoderma* тетраполярный гетероталлизм со множественными аллелями по двум несцепленным А- и В-локусам половой совместимости. Ди-мон скрещивания природных изолятов с монокариотическими тестерами показали наличие множественных аллелей по каждому локусу. При этом интерстерильных репродуктивно изолированных групп в пределах вида *G. applanatum* обнаружено не было. Природные штаммы из разных мест сбора имели

различные аллели локусов, за исключением трех штаммов, собранных с одного субстрата, которые продемонстрировали несовместимость и полусовместимость по полу, то есть имели одинаковые аллели локусов половой совместимости. Количественная оценка аллелей локусов половой совместимости обнаружила, по крайней мере, 8 аллелей А-локуса и 7 аллелей В-локуса.

Вегетативная несовместимость у базидиальных грибов регулирует узнавание грибных индивидов «свой-чужой» при соматическом контакте дикариотических мицелиев в пределах вида. При этом система соматической совместимости в природе действует независимо от системы половой совместимости, обеспечивая генетический обмен между особями посредством гифальных анастомозов. Соматическая несовместимость предотвращает слияние цитоплазм между генетически различными особями, которые отличаются локусами вегетативной (соматической) совместимости. При сращивании вегетативных мицелиев дикариотических штаммов *G. applanatum* на сусло-агаре было охарактеризовано четыре типа антагонистических реакций – от слабого до сильного антагонизма (несовместимость) и совместимость. Преобладали антагонистические взаимодействия сильной (S) степени с относительно широкой зоной конфронтации в 2-3 мм и интенсивной пигментацией и частотой встречаемости 0,46. Реакцию совместимости (С) наблюдали только при сращивании изолятов с одного субстрата (бревна), т.е. при сращивании соматических клонов. Общее генетическое разнообразие антагонистических реакций вегетативной несовместимости по Шеннону составило $H_{vc}=1,216$, что свидетельствует о высоком уровне генетического полиморфизма детерминантов вегетативной несовместимости. А разнообразие фенотипических проявлений реакций антагонизма свидетельствует о вероятной мультиаллельности локусов вегетативной несовместимости. Зависимости между типом антагонизма и географическим местоположением изолятов обнаружено не было; при этом вегетативно совместимые клоны были обнаружены только в пределах общего субстрата (валеж хвойного дерева длиной 3.5 м). В то же время, плодовые тела ганодерм, собранные в одном парке на расстоянии 200 м или в различных местах, всегда были вегетативно несовместимы. По-видимому, расселение на другие субстраты дереворазрушающих грибов, в том числе и ганодерм, происходит с помощью спор полового размножения, а не с помощью вегетативного мицелия. Таким образом, в основном все природные изоляты

трутовика плоского оказались генетически различными индивидами.

Несмотря на генетический полиморфизм и мультиаллельность локусов половой и соматической совместимости, ITS последовательности у московских изолятов *G. applanatum* продемонстрировали удивительный консерватизм и отсутствие дивергенции несмотря на то, что изоляты были собраны с интервалом в семь лет и в разных местах. Филогенетический анализ также показал отсутствие дивергенции и идентичность ITS последовательностей среди московских и петербургских штаммов, а также идентичность с несколькими референсными последовательностями различного происхождения из Генбанка. Только у двух штаммов (GA-T5 и GA-T6) из Московской области было выявлено по одной нуклеотидной замене (Т → С) в ITS1 области. Консерватизм ITS последовательностей *G. applanatum* был отмечен ранее коллегами из БИН РАН у изолятов, собранных на территории г. Санкт-Петербурга (Zmitrovich et al., 2019). Поэтому можно сделать заключение о том, что, в виду отсутствия существенной дивергенции, консервативные ITS последовательности могут служить надежным баркодом для видовой идентификации/верификации природных изолятов *G. applanatum*. Однако, необходимы дальнейшие поиски полиморфных молекулярных маркеров, позволяющих различать природные изоляты гриба различного происхождения в пределах вида. Наше исследование показало, что в Московской области популяция трутовика плоского распространена на большой территории при отсутствии значительной внутривидовой дифференциации.

Список литературы

1. Shnyreva AV. Somatic and sexual compatibility in basidiomycete fungi: application to population analysis of the summer oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. In: Fungal Biology and Biotechnology. Gupta VK, ed. Saarbrücken (Germany): LAP Lambert Academic Publishing. 2010. p. 259–71.
2. Shnyreva A.V., Badalyan S.M., Shnyreva A.A. Analysis of intraspecies genetic variability among collections of medicinal red belt conk mushroom, *Fomitopsis pinicola* (Agaricomycetes) // Int J Med Mushrooms. 2019. V. 21 (3). P. 291–300. DOI: 10.1615/IntJMedMushrooms.2019030083
3. Zmitrovich I.V., Volobuev S.V., Dudka V.A. et al. *Ganoderma applanatum* (Polyporales, Basidiomycota) at the Saint-Petersburg area. Mycology and Phytopathology. 2019. V. 53 (6). P. 354–362. DOI: 10.1134/S0026364819060084

ХАРАКТЕРИСТИКА МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ПЛЕНОК КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

Ветчинкина Е.П.

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

Изучение особенностей жизненного цикла базидиальных макромицетов и вопросов, касающихся молекулярно-генетических, физиологических, ультраструктурных аспектов образования различных морфоструктур, является предметом нашего исследования. Характерной стадией онтогенеза многих базидиальных макромицетов является коричневая мицелиальная пленка – бархатистое пленчатое образование, представляющее собой плотное сплетение пигментированных гиф. После колонизации и освоения субстрата внешний слой

вегетативного непигментированного мицелия уплотняется и приобретает пигментацию, формируется бархатистая кожистой консистенции мицелиальная пленка от бежевого до темно-коричневого цвета, состоящая из плотно переплетенных толстостенных меланизированных гиф. В процессе эволюции эта структура, вероятно, появилась как защитный механизм, предохраняющий мицелий и формирующиеся плодовые тела от неблагоприятных воздействий окружающей среды: избытка освещения, пересыхания мицелия, снижения прони-

цаемости клеточных стенок для токсичных веществ и патогенов.

Считается, что коричневая мицелиальная пленка – это стадия покоя базидиомицетов, возникающая при неблагоприятных внешних условиях среды и выполняющая только «каркасную» защитную функцию. Однако есть все основания полагать, что это не мертвая структура, а живая метаболически активная динамичная система, несущая полифункциональную нагрузку, активно взаимодействующая с ниже расположенным мицелием и окружающей средой и выполняющая важнейшие регуляторные функции в процессе онтогенеза базидиомицетов.

Цель исследования – сравнительное изучение морфолого-культуральных, биохимических, ультраструктурных особенностей мицелиальных пленок базидиальных макромицетов, с оценкой необходимости их формирования для последующего полноценного плодоношения.

Материалы и методы исследования. В работе использовали культуры ксилотрофных базидиомицетов *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm. штамм НК-35, *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm. штамм 0738, *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (шиитаке) штамм F-249, *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray (грифола курчавая) штамм 0917 и *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst (трутовик лакированный) штамм 1315 из коллекции высших базидиальных грибов кафедры микологии и альгологии МГУ им. М.В. Ломоносова и коллекции культур базидиомицетов Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН. Для получения разных стадий морфогенеза, грибные культуры выращивали в колбах на пивном сусле (4° по Баллингу) при стационарных условиях [1]. В качестве исследуемого материала использовали непигментированный мицелий, пигментированный мицелий, (коричневую) мицелиальную пленку, ризоморфы и плодовые тела базидиомицетов. Для получения белковых экстрактов, грибной мицелий разных морфоструктур отделяли от среды выращивания, механически измельчали, экстрагировали в 20 mM Na-K-фосфатном буфере (pH 6.0), осаждали центрифугированием и фильтровали. Растворы обессоливали на колонке Sephadex G-25 («Sigma-Aldrich», Sweden).

Спектрофотометрические измерения проводили на планшетном фотометре BioTek («BioTek Instruments, Inc», USA) и Spark-10M («Tecan», Switzerland) в 96-луночных полистироловых планшетах для иммуноферментного анализа («МиниМед», Россия). Концентрацию белка определяли по методу Бредфорд при 595 нм [2]. Концентрацию углеводов в водных экстрактах оценивали с использованием фенол-сернокислой реакции по методу Дюбуа при 490 нм [3]. Определение общего содержания пигментов (меланинов) определяли в широком диапазоне при длине волны от 220 до 1100 нм. Качественные реакции на меланины проводили по методам [4, 5].

Приготовление проб для световой и электронной микроскопии осуществлялось с помощью фиксации грибных гиф в эпоксидной смоле ЭПОН, для последующего получения полутонких и ультратонких срезов с использованием микротомы («LKB-III», Sweden). Далее образцы монтировали на сеточки и окрашивали 2% раствором уранилацетата и цитратом свинца [6]. Анализ полутонких срезов проводили на световом микроскопе Leica DM6000B («Leica Microsystems», Germany). Анализ ультраструктуры грибных клеток на разных стадиях морфогенеза базидиомицетов проводили

с помощью сканирующего микроскопа JEM-1200 EX («JEOL», Japan) при 80 кэВ.

Активности внутриклеточных ферментов эндоглюканызы [7], ксиланызы [8], амилазы [9], инвертазы [10], хитиназы и целлюлазы [11] определяли путем измерения редуцирующих сахаров, высвобождаемых после ферментативного гидролиза соответствующих субстратов. Содержание восстанавливающих сахаров определяли с помощью 3,5-динитросалициловой кислоты (DNS; «Sigma», USA) при длине волны 540 нм [12]. За единицу активности принимали количество фермента, которое высвобождает 1 мкмоль редуцирующих сахара, эквивалентного глюкозе/ксилозе в минуту на мг белка. Активность α -, β -галактозидаз и α -, β -глюкозидаз определяли по скорости превращения субстратов 4-нитрофенил- β -D-галактопиранозид, 2-нитрофенил- β -D-галактопиранозид, 2-нитрофенил- α -D-галактопиранозид, 4-нитрофенил- β -D-глюкопиранозид, 2-нитрофенил- α -D-глюкопиранозид, 2-нитрофенил- β -D-глюкопиранозид («Fluka», Switzerland) в 4-нитрофенол [13, 14].

Определение протеазной активности проводили с использованием фенольного реагента Фолина-Чокальтеу и оценивали по количеству высвобождающегося из казеина триптофана при длине волны 600 нм [15]. Активность пектацтиазы определяли путем измерения разложения полигалактуроновой кислоты (PGA; «Sigma», USA) до ненасыщенных продуктов при 234 нм [16]. Активность фенолоксиляющих ферментов определяли по скорости окисления соответствующих субстратов: лакказы по АБТС при длине волны 436 нм [17], тирозиназы по L-ДОФА при 475 нм [18], Mn-пероксидазы по 2,6-диметоксифенолу при 468 нм [19] и лигнин пероксидазы по скорости окисления вератрилового спирта («Sigma-Aldrich», Sweden) до вератральдегида при 310 нм [20].

Эксперименты были проведены не менее чем в 5 повторностях в 5 независимых экспериментах. Статистическую обработку результатов проводили общепринятым методом при помощи ПК с использованием статистического пакета анализа данных программы Excel Microsoft Office XP.

Результаты и обсуждение. Многие базидиальные макромицеты образуют в процессе онтогенеза пигментированную мицелиальную пленку, однако по своему внешнему виду данная морфоструктура у разных грибных культур сильно различается. Мицелиальная пленка *G. lucidum* кожистая очень плотная, содержащая очень мало влаги, имеет насыщенный бежевый цвет и формируется в основном по центру колонии. У *G. frondosa* данная структура менее плотная, обводненная, расположена по всей поверхности мицелия, оранжево-коричневого цвета. Для *P. ostreatus* характерной особенностью данной морфоструктуры является почти полное отсутствие пигментации, представляет собой тонкое пленчатое образование белого или слабо кремового цвета, покрывающего всю площадь рыхлого непигментированного мицелия. У *A. mellea*, также как и у *L. edodes* мицелиальная пленка очень плотная бархатистая, покрывающая большую часть поверхности мицелия, темно коричневого (почти черного) цвета из-за большого количества меланина внутри и на поверхности клеток. Исследования методом световой микроскопии полутонких срезов мицелия базидиомицетов показали, что гифы на стадии образования мицелиальных пленок расположены неоднородно. В качестве отличительной

особенности, общей для всех изучаемых базидиомицетов, можно отметить усиление межклеточной спайки, гифы погружены в общий матрикс и очень плотно прилегают друг к другу, образуя многоклеточную структуру. Просвечивающая электронная микроскопия показала, что на стадии коричневой мицелиальной пленки, в сравнении с непигментированным мицелием макромицетов, происходит существенная ультраструктурная перестройка клеток, особенно это касается клеточной стенки, которая является одной из важнейших систем, определяющих направление морфогенетического развития базидиальных грибов.

Отмечено значительное повышение содержание пигментов в мицелиальных пленках, кроме *P. ostreatus*, по сравнению с вегетативным мицелием. Качественные реакции показали, что водные растворы пигментов из базидиомицетов обесцвечивались добавлением H_2O_2 , а в присутствии $KMnO_4$ изменяли окраску с коричневой на зеленую, с последующим выпадением осадка. Добавление $FeCl_3$ приводило к выпадению осадка, который растворялся в присутствии избытка $FeCl_3$. Это характерно для меланинов и свидетельствует о присутствии в их структуре хиноидных и фенольных компонентов.

Общее содержание углеводов в мицелиальных образованиях увеличивалось и превосходило общее содержание белка в 2–8 раза в зависимости от вида грибной культуры.

На разных стадиях развития базидиомицетов нами были обнаружены высокоактивные лектины характерные только для определенного этапа развития, с повышением удельной гемагглютинирующей активности на стадии мицелиальной пленки. Определение углеводной специфичности данных лектинов показало, что наиболее высокое сродство они проявили в отношении L-D-мелибиозы, D-лактозы и D-галактозы. Лектины способны оказывать влияние на функционирование живых тканей, индуцируя у них необходимый биологический ответ, например образование морфоструктур, плодовых тел. Участвовать в обеспечении направленного роста и межклеточного взаимодействия гиф, в том числе при формировании базидиом, принимать участие в регуляции разнообразных ферментативных систем.

Анализ динамики активности ряда функциональных гликопротеинов показал, что для некоторых культур (*L. edodes* и *A. mellea*), в коричневой мицелиальной пленке, по сравнению с вегетативным мицелием, отмечено многократное повышение активности высокоспецифичных лектинов и ряда ферментных систем: лиаз (пектатлиаз), гидролаз (пептидаз), гликозил-гидролаз (амилаз, инвертаз, хитиназ, ксиланаз, целлюлаз (эндоглюканаз, целлюбогидролаз) и α -, β -глюкозидазы, α -, β -галактозидаза), а также оксидоредуктаз (лакказ, тирозиназ, лигнин пероксидаз, Mn-пероксидаз), входящих в состав целлюлолитического, лигнинолитического комплексов базидиомицетов, а также принадлежащих к функциональной категории биогенеза клеточной стенки высших грибов.

Вполне возможно, что пигментированные мицелиальные пленки разных базидиомицетов отличаются друг от друга, как по составу, так и по функциональному значению. У трутовиков *G. frondosa*, *G. lucidum* и вешенки *P. ostreatus* они сродни склероциям, выполняющим защитную функцию и представляют собой стадию покоя при неблагоприятных условиях среды. Напротив, процессы, происходящие в коричневой мицелиальной пленке *L. edodes* и *A. mellea* указывают на активный метаболизм в клетках данной морфоструктуры, несущей

полифункциональную нагрузку в процессах модификации клеточной стенки и цитодифференцировки мицелиальных гиф, формировании морфогенных структур, взаимодействии с внешней средой и регуляции перехода в фазу плодоношения.

Помимо решения научной фундаментальной проблемы, данные исследования направлены на установление роли морфоструктур, тесно связанных с инициацией перехода от вегетативной стадии развития грибов к генеративным в процессах развития и формирования плодовых тел макромицетов. Полученные данные могут быть использованы в грибоводческих хозяйствах и применяться при промышленном выращивании плодовых тел съедобных и лекарственных базидиальных грибов.

Список литературы

1. Ball D.W. Concentration Scales for Sugar Solutions . J. Chem. Educ. 2006. V. 83. P. 1489–1491.
2. 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. V. 72. P. 248–254.
3. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. Calorimetric method for determination of sugars and related substances . Anal. Chem. 1956. V. 28. P. 350–356.
4. Fogarty R.V., Tobin J.M. Fungal melanins and their interaction with metals . Enzyme Microb. Technol. 1996. V. 19, No 2. P. 311–317.
5. Harki E., Talou T., Dargent R. Purification, characterization and analysis of melanin extracted from *Tuber melanosporum* Vitt. . Food chem. 1997. V. 58, No 1-2. P. 69–73.
6. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. Journal of Cell Biology. 1963. V. 17, No 1. P. 208–212.
7. De Paula C.C.P., Montoya Q.V., Meirelles L.A., Farinas C.S., Rodrigues A., Seleguim M.H. High cellulolytic activities in filamentous fungi isolated from an extreme oligotrophic subterranean environment (Catao cave) in Brazil . An. Acad. Bras. Cienc. 2019. V. 91, No. 3 (e20180583). P. 1–11.
8. Nagar S., Mittal A., Gupta V.K. A cost effective method for screening and isolation of xylan degrading bacteria using agro waste material . Asian J. Biol. Sci. 2012. V. 5. P. 384–394.
9. Sakthi S.S., Kanchana D., Saranraj P., Usharani G. Evaluation of amylase activity of the amylolytic fungi *Aspergillus niger* using cassava as substrate . Int. J. Appl. Microbiol. Sci. 2012. V. 1. P. 24–34.
10. Cairns A.J., Howarth C.J., Pollock C.J. Submerged batch culture of the psychrophile *Monographella nivalis* in a defined medium; growth, carbohydrate utilization and responses to temperature . New Phytol. 1995. V. 129. P. 299–308.
11. Zhou J., Song Z., Zhang R., Ding L., Wu Q., Li J., et al. Characterization of a NaCl-tolerant β -N-acetylglucosaminidase from *Sphingobacterium* sp. HWLB1 . Extremophiles. 2016. V. 20. P. 547–557.
12. Miller G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar . Anal. Chem. 1959. V. 31. P. 426–428.
13. Tsujibo H., Hatano N., Mikami T., Hirasawa A., Miyamoto K., Inamori Y. A novel β -N-acetylglucosaminidase from *Streptomyces thermoviolaceus* OPC-520: gene cloning, expression, and assignment to family 3 of the glycosyl hydrolases . Appl. Environ. Microbiol. 1998. V. 64. P. 2920–2924.
14. Kozlova L., Mikshina P.V., Gorshkova T.A. Assay of arabinofuranosidase activity in maize roots . Bio-Protoc. 2016. V. 6, No. 6 (e1764). P. 6.
15. Cupp-Enyard C. Sigma's non-specific protease activity assay-casein as a substrate . J. Vis. Exp. 2008. V. 19, No 899. P. 1–3.

16. Shevchik V.E., Robert-Baudouy J., Hugouvieux-Cotte-Pattat N. Pectate lyase Pell of *Erwinia chrysanthemi* 3937 belongs to a new family. *J. Bacteriol.* 1997. V. 179. P. 7321–7330.
17. Slomczynski D., Nakas J.P., Tanenbaum S.W. Production and characterization of laccase from *Botrytis cinerea* 61-34. *Appl. Environ. Microbiol.* 1995. V. 61. P. 907–912.
18. Pomerantz S.H., Murthy V.V. Purification and properties of tyrosinases from *Vibrio tyrosinaticus*. *Arch. Biochem. Biophys.* 1974. V. 160. P. 73–82.

19. Paszczynski R., Crawford V.B. Huynh Manganese peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*: purification. *Methods Enzymol.* 1988. V. 161. P. 264–270.
20. Orth A.B., Royse D.J., Tien M. Ubiquity of lignin-degrading peroxidases among various wood-degrading fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 1993. V. 59. P. 4017–4023.

ФУНГИЦИД И ЗАЩИТНАЯ ДИСТАНТНАЯ СИГНАЛЬНО-ОПОЗНАВАТЕЛЬНАЯ СИСТЕМА ГРИБА *BIPOLARIS SOROKINIANA*

Воробьев Н.И.^{1*}, Коваленко Н.М.², Попова Э.В.²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин

²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин

Особенности влияния внешних биофизических и биохимических факторов на онтогенез фитопатогенных грибов изучены недостаточно [1,2]. В основном исследования сосредоточились на разработке химических фунгицидов, приостанавливающих рост и развитие грибов и этим защищающих растения от проникновения в их клетки грибного мицелия. При этом руководствуются контактно-системной концепцией ингибирующего действия фунгицида на грибы, то есть предполагается, что молекулы фунгициды диффундируют в окружающую среду и при контакте с клетками гриба запускают в грибах процессы, приводящие к переходу грибов от мицелиальной стадии онтогенеза к стадии конидиогенеза и спороношению, чем завершается каждый цикл развития грибов [3]. Альтернативой этой концепции является бесконтактная концепция, предполагающая завершение цикла развития микроскопических грибов в результате реакции грибов на присутствие в среде бактериальных антагонистов грибов [4] или агрессивных химических веществ, в том числе химических фунгицидов. Реакция грибов на присутствие в окружающей среде фунгицида возможна только при наличии у грибов дистантной сигнально-познавательной системы (ДСП-системы), с помощью которой без контакта молекул фунгицида с клетками гриба осуществляется непрерывный мониторинг окружающего пространства и генерируются алармные сигналы, которые, в свою очередь, инициирует процессы, завершающие циклы развития грибов.

Для обнаружения эффекта бесконтактной инициации фунгицидом завершения цикла развития грибов нами был поставлен опыт с фитопатогенным грибом *Bipolaris sorokiniana*, который выращивали 6-7 суток на чашках Петри, содержащих благоприятную для них питательную овощную среду V-4, а в качестве фунгицида использовался Тилт 250, КЭ [5] в жидкой и капсульной форме. Фунгицид Тилт обладает наиболее продолжительным ингибирующим и истребительным действием на фитопатогенные грибные возбудители болезней, прекращает их дальнейшее развитие и подавляет у них спорообразование.

В опыте в первую контрольную чашку Петри с питательной средой V-4 был помещен только гриб *B. sorokiniana* в форме небольшой таблетки, состоящей из смеси мицелия и конидий гриба. На этой чашке в отсутствие фунгицида гриб развивался по классической схеме, то есть вначале гриб сформировал мицелий на всю площадь чашки, а затем завершил цикл развития переходом в стадию конидиогенеза с формированием конидий.

Для проверки ингибирующего действия Тилта на грибы во вторую чашку Петри на питательную среду V-4 был помещен гриб *B. sorokiniana* в форме таблетки, состоящей из смеси мицелия и конидий гриба, и дополнительно было внесено в жидкой форме 2 мл фунгицида Тилт (0,05%). В течение 6-7 суток во второй чашке Петри мицелий не развивался, не произошло и образование конидий, что подтверждает жесткое ингибирующее действие фунгицида Тилт на развитие гриба *B. sorokiniana*. Вместе с тем, в этом варианте опыта не удалось выявить причину отсутствия признаков развития гриба, то есть не удалось выбрать, какая из двух альтернативных концепций ингибирующего действия фунгицида на гриб имела место в данном варианте опыта – контактно-системная концепция или бесконтактная концепция.

Для выявления бесконтактной реакции грибов на присутствие фунгицида в третью чашку Петри с питательной средой V-4 был помещен гриб *B. sorokiniana* в форме таблетки, состоящей из смеси мицелия и конидий гриба, и 2 мл фунгицида Тилт (0,05%), помещенного внутрь органической запаянной капсулы. Капсульное консервирование фунгицида было применено намеренно, чтобы исключить диффузию молекул фунгицида на чашке и исключить контакты молекул фунгицида с клетками гриба. Следовательно, отличие в развитии гриба на третьей чашке, по сравнению с развитием на первой чашке, может стать доказательством существования ДСП-системы у микроскопических грибов.

На третьей чашке Петри гриб завершил очередной цикл развития по классической схеме, то есть, как обычно, вначале гриб сформировал мицелий, а затем

перешел в стадию конидиогенеза и спороношения. Отличие в развитии гриба на третьей чашке, по сравнению с первой чашкой, заключалось в том, что мицелий и конидии гриба разрослись не на всю площадь чашки Петри. Исключительной стала 2-3 сантиметровая зона вокруг капсулы с фунгицидом, в которую мицелий и конидии гриба не развились, хотя там присутствовала благоприятная питательная среда. Мы объясняем этот факт присутствием в указанной зоне капсулы с фунгицидом и наличием у грибов ДСП-системы, которая способна дистанционно идентифицировать фунгицид и запустить завершающие циклические процессы в грибах, хотя контакт молекул фунгицида с клетками гриба при этом отсутствует.

Таким образом, наличие у микроскопических грибов защитной ДСП-системы, дистанционно реагирующей на присутствие в окружающей среде фунгицидов, позволяет модифицировать технологию применения фунгицидов для защиты растений от фитопатогенов, например, распылением микрокапсул с фунгицидов на растения. Этот прием не снижает ингибирующее действие фунгицида на фитопатогенные грибы, но значительно увеличивает сроки действия фунгицида против

грибов, устраняет испарение фунгицида в окружающую среду и загрязнение фунгицидами аграрных экосистем.

Список литературы

1. Николаев Ю.А., Сургучева Н.А., Филиппова С.Н. Эффект дистантных взаимодействий на рост и развитие стрептомицетов / Микробиология. 2015. Т. 84. № 6. С. 673–679.
2. Воробьев Н.И., Коваленко Н.М., Попова Э.В., Толмачев С.Ю. Дистанционное бесконтактное фунгицидное воздействие электромагнитных волн на развитие грибов *Bipolaris sorokiniana* / Сб. научн. трудов VII Съезда биофизиков России // Краснодар: ФГБОУ ВО «КубГУ». 2023. Т. 2. С. 322.
3. Воробьев Н.И., Коваленко Н.М., Попова Э.В., Толмачев С.Ю. Магнитная стимуляция стадии конидиогенеза фитопатогенного гриба *Bipolaris sorokiniana* (S. Ito & Kurib.) / Материалы 5 Съезда микологов России «Современная микология в России» // М.: Национальная академия микологии, 2022. Т. 9. С. 41–42.
4. Калько Г.В., Лагутина Т.М., Воробьев Н.И., Новикова И.И. Ингибирование микробами-антагонистами фитопатогенного гриба *Fusarium oxysporum* в торфогрунте / Микология и фитопатология. 2001. 35(3). С. 66–76.
5. Фунгицид Тилт / ООО «Syngenta».

ПЕРВЫЕ НАХОДКИ СЕВЕРОАМЕРИКАНСКОЙ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛИНИИ НАСТОЯЩЕГО ТРУТОВИКА В СЕВЕРНОЙ АЗИИ

Жуйкова Е.В., Мухин В.А.

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург

Ксилотрофные базидиомицеты – уникальная группа организмов, способных к твердофазной ферментации лигноцеллюлозного комплекса древесины. Их жизнедеятельность, наряду с таковой древесных растений, лежит в основе углеродного цикла и сопряженных с ним циклов других биогенных элементов, что и определяет современную экологическую парадигму относительно их роли в лесных экосистемах. Широко известным их представителем является *Fomes fomentarius* (L.) Fr. – настоящий трутовик – один из основных деструкторов листовенных древесных остатков в лесах Евразии и Северной Америки, в настоящее время он привлекает внимание и как перспективный вид для получения биологически активных соединений, но его биотехнологическое использование ограничивает отсутствие данных о генетической и эколого-географической изменчивости [Рипачек, 1967; Рабинович и др., 2001; Neilmann-Clausen and Boddy, 2008; Бондарцев, 1953; Grienke et al., 2014].

Последнее время, благодаря широкому использованию молекулярно-генетических методов, установлено, что многие морфовиды грибов являются гетерогенными, состоящими из филогенетических линий, сопоставимых по характеристикам с филогенетическими видами. В частности, в Европе настоящий трутовик состоит из нескольких симпатрических криптических генотипов или филогенетических линий, количество и границы которых разными авторами описываются по-разному [Gáper et al., 2016; Peintner et al., 2019]. С нашей точки зрения существует две линии А и В, каждая из которых разделяется на две сублинии (А1, А2 и В1, В2), облада-

ющие трофической и географической индивидуальностью [Mukhin et al., 2018; Жуйкова, Мухин, 2022].

Филогенетическая линия А (как генотип А) впервые была описана Judova et al. (2012) при анализе последовательностей ITS1-5.8S-ITS2 рДНК настоящего трутовика из Восточной Словакии. Годом позже McCormick et al. (2013) установили, что на территории США представители этого вида обнаруживают определенные молекулярно-генетические отличия от таковых из Европы и обособляются в отдельную кладу. Gáper et al. (2016) предложил рассматривать их как две сублинии филогенетической линии А: североамериканская А1 и европейская А2. В Северной Америке сублиния А1 – это единственная филогенетическая линия настоящего трутовика, участвующего в разложении разнообразного древесного дебриса, преимущественно рода *Betula* [Gilbertson, Ryvarden, 1986; Farr et al., 1989; McCormick et al., 2013; Gáperová et al., 2016].

До недавнего времени считалось, что в Северной Азии представлены три филогенетические сублинии настоящего трутовика: А2, В1 и В2 [Mukhin et al., 2018; Жуйкова, Мухин, 2022]. Однако филогенетический анализ последовательностей внутренних транскрибируемых спейсеров рДНК и гена 5.8S рРНК, выделенных из плодовых тел настоящего трутовика, собранных на Дальнем Востоке (Приморский край – Лазовский, Партизанский районы; остров Сахалин – Анивский, Долинский районы) и в Якутии (окрестности г. Якутск), выявляет кладу из 7 сиквенсов, которые образуют единый кластер с референсными последовательностями представителей сублинии А1 (Рисунок). Обнаруженные изо-

ляты сублинии A1 встречаются на древесных остатках *Alnus* (2), *Betula* (3), *Chosenia* (1) и *Quercus* (1).

В Таблице суммированы все известные нам генетические различия между филогенетическими сублиниями A1 и A2. Можно видеть, что последовательности сублиний A1 и A2 из Сибири и Дальнего Востока отличаются между собой по одному инделу и тремя полиморфным позициям. У них отсутствует характерная для линии В вставка из 7 нуклеотидов вставка в J-5, G-3. В целом, внутри кластера сублинии A1 уровень нуклеотидного разнообразия (π) равен нулю, а уровень сходства составляет 99,87%. Сравнение последовательностей сублинии A1 из азиатской части России и отмеченных в работе McCormick et al. (2013) из Северной Америки, показывает, что они крайне близки: нуклеотидная дивергенция (D_{xy}) составляет 0,033% или в среднем 0,015 п. о.

Таким образом, ареал сублинии A1 охватывает не только североамериканский континент, но и восточную часть Евразии и может быть охарактеризован, как азиатско-североамериканский. Ее присутствие и в Северной Америке, и в Притихоокеанской части Евразии, несомненно, указывает на их биогеографические связи. Об этом же говорят и известные факты присутствия на Дальнем Востоке «североамериканских» видов грибов,

например, *Cryptoporus volvatus* (Peck) Shear [Любарский и Васильева, 1975].

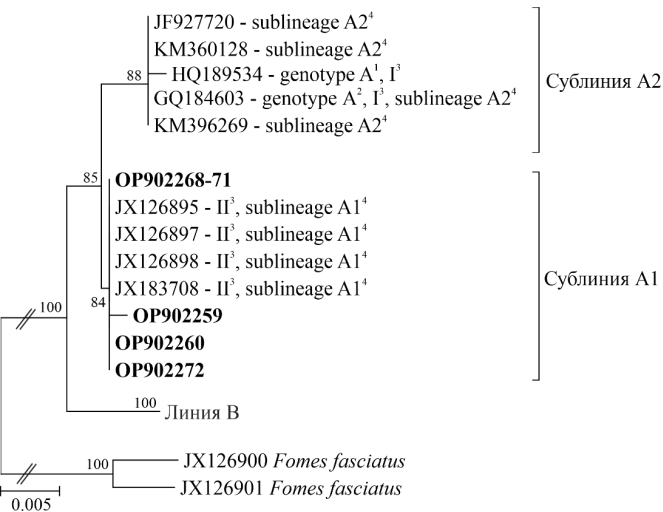


Рис. 1. Филогенетическое дерево последовательностей ITS1-5.8S-ITS2 настоящего трутовика из Сибири и Дальнего Востока и референсных Judova et al., 2012 (1), Pristas et al., 2013 (2), McCormick et al., 2013 (3) и Gáper et al., 2016 (4)

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 24-24-00404).

Табл. 1. Фрагменты выравнивания последовательностей ITS1-5.8S-ITS2, выделенных из базидиокарпов *F. fomentarius* из Азиатской части России (OP902272, OP902273) и референсных последовательностей (EF155498, JX126898,) из Judova et al., 2012 и Gáper et al., 2016

Сиквенс	G-2	J-5, G-3	McC-1	McC-2	Сублиния
JX126898	TTTTTGC	CC-----AGTC	GACCG	CGTTTG	A1
OP902272	TTTTTGC	CC-----AGTC	GACCG	CGTTTG	A1
EF155498	TTTT-GC	CC-----AGTC	ACCCG	CGATTG	A2
OP902273	TTTT-GC	CC-----AGTC	ACCCG	CGATTG	A2

Примечание: темным цветом обозначены вариабельные позиции, используемые для определения сублиний по данным Judova et al., 2012 (обозначены как J), McCormick et al., 2013 (обозначены как McC) и Gáper et al., 2016 (обозначены как G). Жирным шрифтом выделены номера оригинальных последовательностей

Список литературы

1. Рипачек В. Биология дереворазрушающих грибов — М.: Лес. пром-сть, 1967. — 275 с.

2. Рабинович М.Л., Болобова А.В., Кондращенко В.И. Теоретические основы биотехнологии древесных композитов — М.: Наука, 2001. — Кн. 1. Древесины и разрушающие ее грибы. — 264 с.

3. Heilmann-Clausen J., Boddy L. Distribution patterns of wood-decay basidiomycetes at the landscape to global scale. Chap. 14. British Mycological Soc. Symp. Ser. — 2008. — Vol. 28. — P. 263–275.

4. Бондарцев А.С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа — М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1953. — 1106 с.

5. Grienke U., Zöll M., Peintner U. et al. European medicinal polypores – a modern view on traditional uses. J. of Ethnopharmacology. — 2014. — Vol. 154. — P. 564–583.

6. Gáper J., Gáperova S., Pristas P. et al. Medicinal value and taxonomy of the tinder polypore, *Fomes fomentarius* (Agaricomycetes): a review. Int. J. Med. Mushrooms. — 2016. — Vol. 18, №. 10. — P. 851–859.

7. Peintner U., Kuhnert-Finkernagel R., Wille V. et al. How to resolve cryptic species of polypores: an example in *Fomes*. IMA Fungus. — 2019. — Vol. 10, №. 17. — P. 1–21.

8. Mukhin V.A., Zhuykova E.V., Badalyan S.M. Genetic variability of the medicinal tinder bracket polypore, *Fomes fomentarius* (Agaricomycetes), from the Asian Part of Russia. Int. J. Med. Mushrooms. — 2018. — Vol. 20, №. 6. — P. 561–568.

9. Жуйкова Е.В., Мухин В.А. Разнообразие и экологические особенности филогенетических линий настоящего трутовика на Урале. Экология. — 2022. — №. 5. — С. 355–361.

10. Judova J., Dubikova K., Gaperova S. et al. The occurrence and rapid discrimination of *Fomes fomentarius* genotypes by ITS-RFLP analysis. Fungal Biol. — 2012. — Vol. 116. — P. 155–160.

11. McCormick A.M., Grand E.L., Post D.J. et al. Phylogenetic and phenotypic characterization of *Fomes fasciatus* and *Fomes fomentarius* in the United States. Mycology. — 2013. — Vol. 105, №. 6. — P. 1525–1534.

12. Gilbertson R. L., Ryvarden L. North American Polypores — Oslo: Fungiflora, 1986. — Vol. 1: Abortiporus-Lindtneria — 433 p.

13. Farr D.F., Rossman A.Y. Fungal Databases: Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. — 2012. — <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.

14. McCormick M.A., Cubeta M.A., Grand L.F. Geography and hosts of the wood-decay fungi *Fomes fasciatus* and *Fomes fomentarius* in the United States. Nort. Amer. Fungi. — 2013. — Vol. 8, №. 2. — P. 1–53.

15. Gáperová S., Gáper J., Beck T. et al. Morphological variability of *Fomes fomentarius* basidiomata based on literature data. Ann. Univ. Paedagogicae Cracoviensis Studia Naturae. — 2016. — Vol. 1. — P. 42–51.

16. Pristas P., Gáperova S., Gáper J. et al. Genetic variability in *Fomes fomentarius* reconfirmed by translation elongation factor 1-α DNA sequences and 25S LSU rRNA sequences. Biologia. — 2013. — Vol. 68, №. 5. — P. 816–820.

17. Любарский Л.В., Васильева Л.Н. Дереворазрушающие грибы Дальнего Востока — Новосибирск: Наука, 1975. — 164 с.

Глава 2

Биология дрожжей

10.14427/cmr.2024.x.02

ЭКСПРЕСС ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ДРОЖЖЕЙ С ПОМОЩЬЮ БИОСЕНСОРНОГО МЕТОДА

Емельянова Е.В.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, ФИЦ Пушчинский научный центр
биологических исследований РАН, Пушкино

Как найти «чёрную кошку» в тёмной комнате, особенно, если этой «кошки» может и не быть? Подобная задача встаёт перед исследователем, когда необходимо выяснить, имеются ли у микробной культуры ферментные системы, необходимые для метаболизма интересующего субстрата. Такая ситуация возникает при изучении физиологии новых микроорганизмов, при исследованиях в области ремедиации почв и при биотехнологических исследованиях в смежных областях. Набор методов для решения поставленной задачи достаточно обширен. Несомненную пользу в этом случае может принести биосенсорный электрохимический метод, позволяющий быстро и с минимальными затратами оценить наличие интересующих ферментов в микробной клетке, оценить способность культуры расти на том или другом субстрате [1].

Биосенсорный метод оценки биохимических особенностей микробных культур предполагает использование лабораторных моделей электрохимических микробных сенсоров двух типов: реакторного микробного и мембранного микробного сенсоров [2]. Реакторное микробное сенсорное устройство (реакторное МСУ) отличается от мембранного микробного сенсорного устройства (мембранное МСУ) конструкцией микробного распознающего элемента сенсора. Интактные свежесобранные клетки (суспензия клеток) это распознающий элемент реакторного МСУ. Микробные клетки, иммобилизованные на подложке, (рецепторный элемент) служат распознающим элементом мембранного МСУ. Из-за различающейся конструкции распознающих частей сенсорных устройств ответ МСУ на субстрат обуславливают разные процессы. Эти процессы протекают в клетках микробной культуры (культуры-рецептора), используемой для формирования сенсорного устройства, в ответ на внесение субстрата в измерительную кювету сенсорного устройства. Ранее было показано, что для реакторного МСУ ответ на субстрат обусловлен взаимодействием между субстратом и ферментом, который инициирует метаболизм субстрата в клетках культуры-рецептора [1]. Поэтому ответ на субстрат, полученный с помощью реакторного МСУ свидетельствует о том, что микробная клетка содержит фермент, инициирующий метаболизм данного субстрата. В случае мембранного МСУ ответ на субстрат обусловлен двумя процессами: транспортом субстрата в клетки культуры-рецептора и взаимодействием фермент-субстрат в указанных клетках [3]. При отсутствии в клетках фермента начального метаболизма субстрата отклик будет инициирован только транспортом субстрата в микробную клетку.

Биосенсорный экспресс метод был первоначально использован при исследовании биохимических особенностей бактерий [1]. Методика также была опробована на дрожжевых культурах, чтобы оценить способ-

ность ассимилировать метанол. В работе использовали культуры: *Saccharomyces cerevisiae*, *Komagataella pastoris* (*Pichia pastoris*) ВКМ-Y-884, *Ogataea methanolica* (*Pichia methanolica*) МН-4, *Ogataea angusta* (*Hansenula angusta*) ВКМ-Y-1397, *Ogataea parapolyomorpha* (*Pichia angusta*) ВКМ-Y-2518, *Ogataea polymorpha* (*Hansenula polymorpha*) ВКМ-Y-2559, *Candida ethanolica*. Культуры выращивали на сусле (3.5°Б) в течение 24 часов при непрерывном перемешивании на качалке при 28°C. Полученную биомассу отделяли центрифугированием, промывали 50 mM K-Na-фосфатным (pH 7.4) буфером и суспендировали в том же буфере до концентрации влажных клеток 50 г/л. Полученные суспензии применяли для формирования лабораторных моделей МСУ.

Для формирования распознающей части реакторного МСУ часть суспензии клеток исследуемой культуры вносили в измерительную кювету, содержащую 50 mM K-Na-фосфатный (pH 7.4) буфер. Туда же помещали кислородный электрод типа Кларка. После каждого определения кювету промывали, а затем заполняли свежим буферным раствором, куда добавляли порцию исследуемой суспензии.

Для формирования распознающей части мембранного МСУ исследуемую суспензию иммобилизовали на фрагменте (4 4 мм²) стекlobумаги Whatman методом физической сорбции. Рецепторный элемент, полученный в результате иммобилизации, закрепляли на измерительной поверхности кислородного электрода Кларка, формируя микробный электрод. Микробный электрод помещали в измерительную кювету, заполненную 50 mM K-Na-фосфатным (pH 7.4) буфером. Микробный электрод и кювету промывали после каждого измерения, рецепторный элемент не меняли на свежий.

После формирования распознающей части МСУ определяли отклик клеток (интактных клеток для реакторного МСУ и иммобилизованных клеток для мембранного МСУ) на субстрат. Для этого раствор субстрата добавляли в кювету. Измерения проводили в открытой 5-мл кювете, оснащённой магнитной мешалкой, при + 20-22°C. После внесения субстрата в кювету изменялась скорость потребления кислорода дрожжевыми клетками. Кислородный электрод преобразовывал изменение концентрации кислорода (как результат реакции клеток на субстрат) в изменение тока электрода. Сигнал кислородного электрода (изменение тока электрода) усиливали с помощью Ingold 531 O₂ amplifier. Скорость изменения потребления кислорода клетками в ответ на появление субстрата была пропорциональна скорости изменения тока электрода, которую регистрировали с помощью двухкоординатного XY Recorder-4103. Скорость отклика клеток на субстрат (скорость реакции на субстрат) в пА/с рассчитывали как первую производ-

ную изменения тока электрода в ответ на внесение субстрата. Продолжительность одного измерения, включая стадию промывки реакционной кюветы, не превышала 20 минут.

Известно, что пекарские дрожжи не используют метанол для роста. Измерения, проведённые с помощью реакторного МСУ, подтвердили это. Ответ интактных клеток *Saccharomyces cerevisiae* на метиловый спирт был равен 0 пА/с, в то время как был получен неплохой отклик клеток на этиловый спирт (120 мМ) – 34.0 пА/с. Полученные результаты свидетельствовали о том, что в клетках исследованной культуры *Saccharomyces cerevisiae* присутствовал фермент начального метаболизма этанола. Но клетки не содержали ферментных систем иницирующих метаболизм метанола. Однако реакция на метанол была получена для иммобилизованных клеток *Saccharomyces cerevisiae* при измерениях с помощью мембранного СМУ (Рисунок А), что предполагает транспорт метанола в клетки дрожжей. Метанол хорошо растворяется в липидах клеточной оболочки и может самостоятельно проникать в клетки, на что указывал бы линейный характер зависимости скорости реакции клеток на метанол от концентрации последнего. Однако на Рисунке А представлена кривая с насыщением, то есть транспорт происходил с участием переносчиков. А низкая активность процесса транспорта может говорить об участии переносчиков, неспецифичных для метанола.

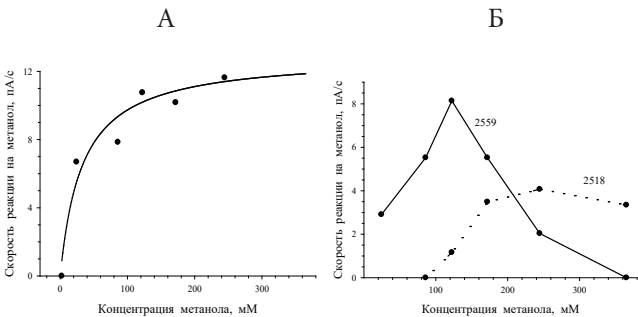


Рис. 1. Зависимости скорости реакции на метанол от концентрации метанола для иммобилизованных клеток (мембранное МСУ) *Saccharomyces cerevisiae* (А) и интактных клеток (реакторное МСУ) *Ogataea parapolymorpha* ВКМ-Y-2518 и *Ogataea polymorpha* ВКМ-Y-2559 (Б).

С помощью реакторных СМУ, сформированных на основе интактных свежесобранных клеток *Ogataea methanolica* МН-4, *Ogataea angusta* ВКМ-Y-1397, *Ogataea parapolymorpha* ВКМ-Y-2518, *Ogataea polymorpha* ВКМ-Y-2559, *Komagataella pastoris* ВКМ-Y-884 и *Candida ethanolica*, были определены отклики клеток не только на одноатомные спирты (метанол и этанол), но и на многоатомные спирты (глицерин, 10 мМ, и маннит, 2.7 мМ). Результаты измерений представлены в Таблице. Наличие откликов на субстрат, обнаруженных для интактных клеток культур, применяя биосенсорный метод, свидетельствовало о том, что клетки дрожжевых культур содержали ферменты, иницирующие метаболизм субстрата, и культуры могли расти на данном субстрате. Для сравнения с результатами, полученными с помощью биосенсорного метода, в таблице представлены справочные данные с сайта <https://theyeasts.org>: углеродсодержащие субстраты, ассимилируемые культурами. Кроме того, для интактных клеток *Ogataea parapolymorpha* ВКМ-Y-2518 и *Ogataea polymorpha* ВКМ-Y-2559 были построены зависимости скорости реакции на метанол от концентрации метанола (Рисунок Б).

Было обнаружено совпадение результатов, полученных с помощью биосенсорного исследования, с данными, полученными классическим методом и представленными на сайте. Отклики интактных клеток на метанол были зафиксированы для *Ogataea parapolymorpha* ВКМ-Y-2518 и *Ogataea polymorpha* ВКМ-Y-2559, но были, как видно из Рисунка Б, достаточно низкими. Обнаружено несовпадение для культуры *Candida ethanolica*. Для интактных клеток этих дрожжей была зафиксирована реакция на глицерин, что не совпадает с результатами определения классическим методом, который был проведён для типового штамма дрожжей. Возможно, штамм, используемый в биосенсорных исследованиях, не был типовым.

Табл. 1. Физиологические особенности культур, определённые разными методами.

Культура	Скорость реакции (в пА/с) клеток на субстрат (биосенсорный метод)				Рост культур на углеродсодержащих субстратах (данные сайта https://theyeasts.org)			
	метанол	этанол	глицерин	маннит	метанол	этанол	глицерин	маннит
МН-4	117.4	151.2	1.5	11.3	+	+	+, w	+
Y-1397	9.6	64.2	22.7	12.8	+	+	+	+
Y-2518	+ (рис Б)	36.6	13.4	8.7	+, w	+	+	+
Y-2559	+ (рис Б)	54.7	9.0	7.0	w	+	+	+
Y-884	1.7	79.7	14.0	0	+	+	-, +	+, w
C. eth.	0	127.0	9.9	0	-	+	-	-

w – слабый рост.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, о том, что биосенсорный электрохимический метод, позволяет быстро и с минимальными затратами оценить физиологические особенности дрожжевых культур.

Список литературы

1. Emelyanova E.V. Microbial biosensor for characterization of a microorganism: a review focusing on the biochemical activity of microbial cells. // Micromachines. 2023. V. 14. 733. DOI: 10.3390/mi14040733.
2. Racek J. Cell-Based Biosensors, Technomic Publishing Company, Lancaster, Basel, 1995. Pp. 13–14.
3. Turner A.P.F., Karubr I., Wilson G.S.. Biosensors: Fundamentals and Applications, Oxford University Press, New York, 1987.

QUORUM SENSING ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*

Еноктаева О.В., Николенко М.В., Архипова А.А., Барышникова Н.В., Сивкова Д.С.
ТюмГМУ Минздрава РФ, Тюмень

Биопленочная экосистема грибов рода *Candida* представляет собой гетерогенную, хорошо организованную многофункциональную структуру, клетки которой взаимозависимы в чувствительной системе quorum sensing (QS). Такая стратегия коммуникации между особями популяции способствует их благополучному существованию внутри клеточного конгломерата, регуляции численности микроорганизмов и контролю конкуренции за питательные вещества [1, 2].

Чувство кворума в дрожжевом конгломерате с высокой плотностью клеток строго контролируется определенными генами и обеспечивается межклеточной передачей сигналов, основанной на сигнальных молекулах – аутоиндукторах, которые свободно распространяются от одной клетки к другой и осуществляют координацию клеточной активности, что напоминает жизнедеятельность многоклеточного организма. Кроме того, клетки в биопленке, по сравнению с планктонными формами, обладают специализацией по выполняемым функциям, у них происходит изменение в экспрессии генов, понижается чувствительность к химическим соединениям с противогрибковой активностью, повышается выживаемость в неблагоприятных условиях окружающей среды, снижается эффективность защитных механизмов организма-хозяина, облегчается усвоение питательных веществ [2, 3].

Накопление сигнальных молекул в толще конгломерата определяет развитие, существование и разрушение биопленки. Наиболее известным аутоиндуктором *Candida albicans* (*C. albicans*) является фарнезол – терпеновый спирт, который начинает выделяться в больших количествах, когда плотность клеток биопленки после стадий размножения и созревания значительно увеличивается. Данное вещество воздействует на рецепторы бластоспор, препятствуя росту псевдомицелия и созреванию биопленки. В последствии наступает фаза дисперсии, когда от биопленки начинают отделяться отдельные бластоспоры и их агрегаты. Поэтому эндогенное накопление фарнезола является фактором, инициирующим разрушение биопленочной структуры при достижении критической концентрации клеток. Экзогенное воздействие фарнезола так же замедляет образование биопленки, блокируя экспрессию многих генов, ответственных за образование псевдомицелия, зато индуцирует экспрессию гена *adh*, ответственного за ингибирование образования биопленки.

Фарнезолу отводится важная роль в жизнедеятельности клеток *C. albicans*. Благодаря его синтезу увеличивается экспрессия генов метаболизма эргостерола – молекулы-мишени при применении фармакологических препаратов, блокирующих синтез эргостерола. Фарнезол также влияет на производство хламидоспор, транспорт железа и активация генов, ответственных за устойчивость к антибиотикам и окислительный стресс. В эксперименте на мышах было показано, что фарнезол оказывает негативное влияние и на организм хозяина, ингибируя активность макрофагов.

Сигнальная молекула тиамазол является антагонистом фарнезола в клетках *C. albicans*. Данный аутоиндуктор напротив стимулирует рост гифальных форм во время промежуточной фазы роста биопленки. По сравнению с планктонными клетками биопленочные клетки продуцируют большее количество тиамазола. Он защищает клетки от снижения экспрессии генов репликации ДНК, сегрегации хромосом и контроля клеточного цикла [2, 3, 4, 5].

Для современной медицины получение знаний о взаимосвязях патогенных микроорганизмов внутри биопленки является перспективным направлением, так как регуляцию физиологических процессов между членами клеточного конгломерата можно рассматривать в качестве мишени при терапии кандидозов.

Список литературы

1. Targalska M., Kunicka-Styczyńska A. *Candida* biofilms: Environmental and clinical aspects . The Yeast Role in Medical Applications. – IntechOpen, 2017.
2. Cavalheiro M., Teixeira M. C. *Candida* biofilms: threats, challenges, and promising strategies . Frontiers in medicine. – 2018. – Т. 5. – С. 28.
3. Rodrigues C. F., Černáková L. Farnesol and tyrosol: secondary metabolites with a crucial quorum-sensing role in *Candida* biofilm development . Genes. – 2020. – Т. 11. – №. 4. – С. 444.
4. Sebaa S., Boucherit-Otmani Z., Courtois P. Effects of tyrosol and farnesol on *Candida albicans* biofilm . Molecular medicine reports. – 2019. – Т. 19. – №. 4. – С. 3201-3209.
5. Jakab Á., Tóth Z., Nagy F., Nemes D., Bácskay I., Kardos G., et al. Physiological and transcriptional responses of *Candida parapsilosis* to exogenous tyrosol . Applied and Environmental Microbiology. – 2019. – Т. 85. – №. 20. – С. e01388-19.

ОЦЕНКА ФОСФОЛИПАЗНОЙ, ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ И ПРОТЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У ШТАММОВ ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫХ ДРОЖЖЕЙ *CANDIDA PARAPSILOSIS* И *CANDIDA TROPICALIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВЫ НА ТЕРРИТОРИИ ДЕТСКИХ ПЛОЩАДОК В ГОРОДЕ МОСКВЕ

Глушакова А.М.^{1,2,3}, Родионова Е.Н.², Качалкин А.В.^{1,3}

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения, Москва

²НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва

³Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино

Дрожжевые грибы являются обязательным компонентом почвенных микробных сообществ.

С одной стороны, базидиомицетовые сапротрофные виды дрожжей (*Apiotrichum porosum*, *Goffeauzyma*

gastrica, *Saitozyma podzolica*, *Tausonia pullulans*) характерны для верхнего слоя почвы (0–15 см) природных экосистем в различных географических зонах (Botha 2011; Yurkov 2018). С другой стороны, аскомицетовые потенциально патогенные дрожжи рода *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Diutina catenulata* (*C. catenulata*), *Nakaseomyces glabratus* (*C. glabrata*), *Pichia kudriavzevii* (*C. krusei*), *Meyerozyma guilliermondii* (*C. guilliermondii*) могут доминировать в дрожжевых комплексах верхнего слоя почвы в городских экосистемах, например, в местах хранения и утилизации бытовых отходов (Тереева et al., 2018) Также патогенные базидиомицетовые дрожжи *Cryptococcus neoformans* регулярно обнаруживают в верхнем почвенном слое, обогащенном птичьим пометом (Naz et al., 2017; Ribeiro et al., 2019). Такие участки в городах обычно расположены в непосредственной близости от жилых домов и рабочих мест и могут косвенно наносить ощутимый ущерб здоровью населения.

Негативной отличительной особенностью условно-патогенных и патогенных видов дрожжевых грибов является их способность аккумулироваться в почвенной среде. При этом инфекционные заболевания, вызываемые дрожжами, являются космополитными, они распространены по всему миру, в странах с различным климатом и типом почвы (Pereira et al., 2020; Kumar et al., 2022; Wang et al., 2022).

В городских условиях дети контактируют с почвой чаще, чем взрослые. Особенно это касается игровых площадок, где дети проводят большую часть времени на открытом воздухе. Общественные игровые площадки — это место непосредственного контакта ребенка с окружающей средой. Поэтому городские дети чаще, чем взрослые, подвергаются риску заражения потенциально патогенными микроорганизмами, которые присутствуют в верхнем слое урбаноземов. Воздействие может происходить различными путями, включая проглатывание и контакт с кожей (например, через микротрещины и небольшие раны и царапины). Другие пути воздействия, имеющие отношение к игровому поведению детей, включают контакт почвы с глазами (Solo-Gabriele et al., 2016; Pereira et al., 2020).

В настоящее время дрожжи в верхнем слое городской почвы на детских площадках изучены очень слабо. Однако наличие условно-патогенных и патогенных видов дрожжей из родов *Candida* и *Cryptococcus* уже было продемонстрировано исследователями из Польши для городской почвы в районе детских площадок в городе Лодзь (Wójcik et al., 2013). Недавно проведенное нами исследование верхнего слоя почвы на десяти детских площадок на юго-востоке и востоке г. Москвы в течение года показало постоянное присутствие двух условно-патогенных дрожжей *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*, включенных в «Список приоритетных патогенных грибов ВОЗ» в 2022 г. (World Health Organization 2022). Максимальная доля обоих видов была в конце лета, минимальная – с ноября по март. При этом доля *C. parapsilosis* всегда была выше, чем доля *C. tropicalis*. Кроме того, изучив профиль чувствительности выделенных штаммов к трем конвенциональным антифунгальным препаратам:

флуконазолу, вориконазолу и амфотерицину В, мы выявили резистентность к флуконазолу у 41% штаммов *C. parapsilosis* и у 54% штаммов *C. tropicalis*; устойчивость к вориконазолу у 18% штаммов *C. parapsilosis* и у 12% штаммов *C. tropicalis*, и наименьший процент резистентных штаммов был выявлен к амфотерицину В – у 3% и 1% штаммов *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*, соответственно (Glushakova et al., 2024).

Это побудило нас далее продолжить изучать вирулентные свойства штаммов *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*, выделенных из верхнего слоя почвы на территории детских площадок в спальных районах г. Москвы и начать с исследования их фосфолипазной, гемолитической и протеазной активности. Конститутивные и индуцибельные гидролитические ферменты условно-патогенных видов дрожжей могут повреждать клеточные мембраны или нарушать их функции, а также разрушать клетки и молекулы иммунной системы человека. Было показано, что более высокая экспрессия фосфолипаз и протеаз у штаммов условно-патогенных видов коррелирует с более высокой вирулентностью и наоборот, что подтверждает их роль как важнейших факторов патогенности (Rossoni et al., 2013; Jammil and Yehia 2020).

Видовую идентификация взятых для исследования штаммов дрожжевых грибов *C. parapsilosis* и *C. tropicalis* проводили на основе анализа нуклеотидной последовательности ITS региона рДНК по описанной ранее методике (Kachalkin et al., 2021). Определение фосфолипазной, гемолитической и протеазной активности у штаммов проводили по стандартным методикам с незначительными модификациями (Price et al., 1982; Rùchel et al., 1982; Luo et al., 2001). Показатель фосфолипазной и гемолитической активности (Pz) рассчитывали, как отношение диаметра дрожжевой колонии к диаметру зоны помутнения среды (Abi-Chacra et al., 2013). Значения Pz соответствовали четырем категориям интенсивности ферментативной активности: Pz = 1, отсутствие активности; $0.999 \geq Pz \geq 0.700$, низкая активность; $0.699 \geq Pz \geq 0.400$, средняя активность; $Pz \leq 0.399$, высокая активность. Всего было протестировано 60 штаммов *C. parapsilosis* и 28 штаммов *C. tropicalis*. Каждый штамм был проанализирован в трех повторностях.

В результате проведенного исследования было показано, что среди почвенных изолятов *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*, выделенных с территории детских площадок, присутствуют штаммы с гидролитической активностью. Фосфолипазная активность была выявлена у 100% штаммов *C. tropicalis* и у 25% штаммов *C. parapsilosis*. Гемолитическая активность наблюдалась у 57% штаммов *C. tropicalis* и у 51% штаммов *C. parapsilosis*. Среднее значение фосфолипазной активности у штаммов *C. tropicalis* соответствовало диапазону высокой активности, у штаммов *C. parapsilosis* – умеренной. Гемолитическая активность у штаммов обоих видов находилась в диапазоне низких значений. Протеазная активность была обнаружена у 100% штаммов *C. parapsilosis* и 100% штаммов *C. tropicalis*. Для обоих видов ее среднее значение соответствовало диапазону умеренной ферментативной активности (Таблица).

Табл. 1. Показатель гидролитической активности (Pz, ошибка среднего) штаммов *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*, выделенных из верхнего слоя почвы на территории детских площадок в г. Москве.

Вид дрожжей	Число исследованных штаммов	Фосфолипазы		Гемолизины		Протеазы	
		% активных штаммов	Pz	% активных штаммов	Pz	% активных штаммов	Pz
<i>C. parapsilosis</i>	60	15/60 (25)	0.54 ±0.46	31/60 (51)	0.82 ±0.32	60/60 (100)	0.64 ±0.38
<i>C. tropicalis</i>	28	28/28 (100)	0.39 ±0.24	16/28 (57)	0.80 ±0.34	28/28 (100)	0.57 ±0.31

Таким образом, верхний слой почвы на детских площадках может рассматриваться как резервуар для аккумуляции и распространения вирулентных штаммов потенциально патогенных видов дрожжей рода *Candida*. Присутствие условно-патогенных видов *C.parapsilosis* и *C. tropicalis* на детских площадках может представлять серьезную опасность для детей и подростков, чья иммунная система еще недостаточно развита, а также в целом для растущей доли городского населения, иммунитет которого снижается при постоянном воздействии множества неблагоприятных антропогенных факторов в городской среде.

Работа выполнена в рамках темы госзадания МГУ № 121040800174–6.

Исследование выполнено с использованием научного оборудования центра коллективного пользования «НИИ-ИВС им. И.И. Мечникова» – при финансовой поддержке проекта Российской Федерации в лице Минобрнауки России. Соглашение № 075–15–2021–676 от 28.07.2021.

Список литературы

- Botha A. The importance and ecology of yeasts in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 2011. 43(1). 1–8. DOI:10.1016/j.soilbio.2010.10.001
- Yurkov A.M. Yeasts of the soil—obscure but precious. *Yeast*. 2018. 35(5). 369–378. DOI:10.1002/yea.3310
- Tepeeveva A.N., Glushakova A.M., Kachalkin A.V. Yeast communities of the Moscow city soils. *Microbiology*. 2018. 87. 407–415. DOI:10.1134/S0026261718030128
- Naz S.A., Yaseen M., Jabeen N., Shafique M. Isolation of potentially pathogenic fungi from selected pigeons' feeding sites in Karachi: A new dimension to health hazard. *JPM J. Pak. Med. Assoc.* 2017. 67. 901–906.
- Ribeiro E.A., Tomich G.M., Alves J.A.G., Santos K. Occurrence of *Cryptococcus neoformans* in the excreta of urban pigeons in the municipality of Redenção in Amazônia, Brazil. *Acta Biomedica Brasiliensia*. 2019. 10(1). 27–34. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7882214>
- Pereira R.S., Dos Santos H.D.H., Moraes O.S., Júnior D.P.L., Hahn R.C. Children's public health: Danger of exposure to pathogenic fungi in recreational places in the middle-west region of Brazil. *Journal of infection and public health*. 2020. 13(1). 51–57. DOI:10.1016/j.jiph.2019.06.018
- Kumar S., Kumar A., Roudbary M., Mohammadi R., Černáková L., Rodrigues C. F. Overview on the infections related to rare *Candida* species. *Pathogens*. 2022. 11(9). 963. DOI:10.3390/pathogens11090963
- Wang Q., Cai X., Li Y., Zhao J., Liu Z., Jiang Y., Meng L., Li Y., Pan S., Ai X., Zhang F., Li R., Zheng B., Wan Z., Liu W. Molecular identification, antifungal susceptibility, and resistance mechanisms of

pathogenic yeasts from the China antifungal resistance surveillance trial (CARST-fungi) study. *Frontiers in Microbiology*. 2022. 13. 1006375. DOI:10.3389/fmicb.2022.1006375

9. Solo-Gabriele H., Brandão J., Gordon B., Ferguson A. Recreational Environment: Pathogenic Fungi in Public Places, Information Gaps in Assessing Public Health Risk. In *Environmental Mycology in Public Health*, 1st ed.; Viegas C., Pinheiro C., Verissimo Cr., Sabino R., Brandão J., Viegas S., Eds. Elsevier. Netherlands. 2016. pp. 167–192. DOI:10.1016/B978-0-12-411471-5.00013-2

10. Wójcik A., Kurnatowski P., Błazkowska J. Potentially pathogenic yeasts from soil of children's recreational areas in the city of Łódź (Poland). *International journal of occupational medicine and environmental health* 2013. 26(3). 477–487. DOI:10.2478/s13382-013-0118-y

11. World Health Organization 2022. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>

12. Glushakova A., Rodionova E., Kachalkin A. Evaluation of opportunistic yeasts *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis* in topsoil of children's playgrounds. *Biologia*. 2024. DOI:10.1007/s11756-024-01643-3

13. Rossoni R.D., Barbosa J.O., Vilela S.F.G., Santos J.D.D., Jorge A.O.C., Junqueira J.C. Correlation of phospholipase and proteinase production of *Candida* with in vivo pathogenicity in *Galleria mellonella*. *Braz. J. Oral Sci.* 2013. 12. 199–204.

14. Jammil N.A.N., Yehia M.M. Virulence Factors of Yeasts Isolated From Oral Lesions. *Annals of the College of Medicine, Mosul*. 2020. 41(2). 170–177. DOI:10.33899/mmed.2020.164160

15. Kachalkin A.V., Glushakova A.M., Venzhik A.S. Presence of clinically significant endophytic yeasts in agricultural crops: monitoring and ecological safety assessment. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2021. 723. 042005. DOI:10.1088/1755-1315/723/4/042005

16. Price M.F., Wilkinson I.D., Gentry L.O. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*. 1982. 20. 7–14. DOI:10.1080/00362178285380031

17. Rüchel J., Tegeler R., Trost M.A. A comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. *Sabouraudia*. 20(3). 233–244. DOI:10.1080/00362178285380341

18. Luo G., Samaranayake L.P., Yau J.Y. *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. *Journal of Clinical Microbiology*. 2001. 39(8). 2971–2974. DOI:10.1128/JCM.39.8.2971-2974.2001

19. Abi-Chacra E.A., Souza L.O., Cruz L.P., Braga-Silva L.A., Gonçalves D.S., Sodre C.L., Ribeiro M.D., Seabra S.H., Figueiredo-Carvalho M.H.G., Barbedo L.S., Zancoppe-Oliveira R.M., Ziccardi M., Santos A.L. Phenotypical properties associated with virulence from clinical isolates belonging to the *Candida parapsilosis* complex. *FEMS Yeast Research*. 2013. 13(8). 831–848. DOI:10.1111/1567-1364.12092

ОЦЕНКА ФОСФОЛИПАЗНОЙ, ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ И ПРОТЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У ШТАММОВ ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫХ ДРОЖЖЕЙ *CANDIDA PARAPSILOSIS* И *CANDIDA TROPICALIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВЫ НА ТЕРРИТОРИИ ДЕТСКИХ ПЛОЩАДОК В ГОРОДЕ МОСКВЕ

Глушакова А.М.^{1,2,3}, Родионова Е.Н.², Качалкин А.В.^{1,3}

¹ МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения, Москва² НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва³ Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино

Дрожжевые грибы являются обязательным компонентом почвенных микробных сообществ.

С одной стороны, базидиомицетовые сапротрофные виды дрожжей (*Apiotrichum porosum*, *Goffeauzyma*

gastrica, *Saitozyma podzolica*, *Tausonia pullulans*) характерны для верхнего слоя почвы (0–15 см) природных экосистем в различных географических зонах (Botha 2011; Yurkov 2018). С другой стороны, аскомицетовые потенциально патогенные дрожжи рода *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Diutina catenulata* (*C. catenulata*), *Nakaseomyces glabratus* (*C. glabrata*), *Pichia kudriavzevii* (*C. krusei*), *Meyerozyma guilliermondii* (*C. guilliermondii*) могут доминировать в дрожжевых комплексах верхнего слоя почвы в городских экосистемах, например, в местах хранения и утилизации бытовых отходов (Тереева et al., 2018). Также патогенные базидиомицетовые дрожжи *Cryptococcus neoformans* регулярно обнаруживают в верхнем почвенном слое, обогащенном птичьим пометом (Naz et al., 2017; Ribeiro et al., 2019). Такие участки в городах обычно расположены в непосредственной близости от жилых домов и рабочих мест и могут косвенно наносить ощутимый ущерб здоровью населения.

Негативной отличительной особенностью условно-патогенных и патогенных видов дрожжевых грибов является их способность аккумулироваться в почвенной среде. При этом инфекционные заболевания, вызываемые дрожжами, являются космополитными, они распространены по всему миру, в странах с различным климатом и типом почвы (Pereira et al., 2020; Kumar et al., 2022; Wang et al., 2022).

В городских условиях дети контактируют с почвой чаще, чем взрослые. Особенно это касается игровых площадок, где дети проводят большую часть времени на открытом воздухе. Общественные игровые площадки — это место непосредственного контакта ребенка с окружающей средой. Поэтому городские дети чаще, чем взрослые, подвергаются риску заражения потенциально патогенными микроорганизмами, которые присутствуют в верхнем слое урбанизированной почвы. Воздействие может происходить различными путями, включая проглатывание и контакт с кожей (например, через микротрещины и небольшие раны и царапины). Другие пути воздействия, имеющие отношение к игровому поведению детей, включают контакт почвы с глазами (Solo-Gabriele et al., 2016; Pereira et al., 2020).

В настоящее время дрожжи в верхнем слое городской почвы на детских площадках изучены очень слабо. Однако наличие условно-патогенных и патогенных видов дрожжей из родов *Candida* и *Cryptococcus* уже было продемонстрировано исследователями из Польши для городской почвы в районе детских площадок в городе Лодзь (Wójcik et al., 2013). Недавно проведенное нами исследование верхнего слоя почвы на десяти детских площадках на юго-востоке и востоке г. Москвы в течение года показало постоянное присутствие двух условно-патогенных дрожжей *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*, включенных в «Список приоритетных патогенных грибов ВОЗ» в 2022 г. (World Health Organization 2022). Максимальная доля обоих видов была в конце лета, минимальная — с ноября по март. При этом доля *C. parapsilosis* всегда была выше, чем доля *C. tropicalis*. Кроме того, изучив профиль чувствительности выделенных штаммов к трем конвенциональным антифунгальным препаратам: флуконазолу, вориконазолу и амфотерицину В, мы выявили резистентность к флуконазолу у 41% штаммов *C. parapsilosis* и у 54% штаммов *C. tropicalis*; устойчивость к вориконазолу у 18% штаммов *C. parapsilosis* и у 12% штаммов *C. tropicalis*, и наименьший процент резистентных штаммов был выявлен к амфотерицину В — у 3% и 1% штаммов *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*, соответственно (Glushakova et al., 2024).

Это побудило нас далее продолжить изучать вирулентные свойства штаммов *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*, выделенных из верхнего слоя почвы на территории детских площадок в спальных районах г. Москвы и начать с исследования их фосфолипазной, гемолитической и протеазной активности. Конститутивные и индуцибельные гидролитические ферменты условно-патогенных видов дрожжей могут повреждать клеточные мембраны или нарушать их функции, а также разрушать клетки и молекулы иммунной системы человека. Было показано, что более высокая экспрессия фосфолипаз и протеаз у штаммов условно-патогенных видов коррелирует с более высокой вирулентностью и наоборот, что подтверждает их роль как важнейших факторов патогенности (Rossoni et al., 2013; Jammil and Yehia 2020).

Видовую идентификацию взятых для исследования штаммов дрожжевых грибов *C. parapsilosis* и *C. tropicalis* проводили на основе анализа нуклеотидной последовательности ITS региона рДНК по описанной ранее методике (Kachalkin et al., 2021). Определение фосфолипазной, гемолитической и протеазной активности у штаммов проводили по стандартным методикам с незначительными модификациями (Price et al., 1982; Ruchel et al., 1982; Luo et al., 2001). Показатель фосфолипазной и гемолитической активности (Pz) рассчитывали, как отношение диаметра дрожжевой колонии к диаметру зоны помутнения среды (Abi-Chacra et al., 2013). Значения Pz соответствовали четырем категориям интенсивности ферментативной активности: Pz = 1, отсутствие активности; $0.999 \geq Pz \geq 0.700$, низкая активность; $0.699 \geq Pz \geq 0.400$, средняя активность; $Pz \leq 0.399$, высокая активность. Всего было протестировано 60 штаммов *C. parapsilosis* и 28 штаммов *C. tropicalis*. Каждый штамм был проанализирован в трех повторностях.

В результате проведенного исследования было показано, что среди почвенных изолятов *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*, выделенных с территории детских площадок, присутствуют штаммы с гидролитической активностью. Фосфолипазная активность была выявлена у 100% штаммов *C. tropicalis* и у 25% штаммов *C. parapsilosis*. Гемолитическая активность наблюдалась у 57% штаммов *C. tropicalis* и у 51% штаммов *C. parapsilosis*. Среднее значение фосфолипазной активности у штаммов *C. tropicalis* соответствовало диапазону высокой активности, у штаммов *C. parapsilosis* — умеренной. Гемолитическая активность у штаммов обоих видов находилась в диапазоне низких значений. Протеазная активность была обнаружена у 100% штаммов *C. parapsilosis* и 100% штаммов *C. tropicalis*. Для обоих видов ее среднее значение соответствовало диапазону умеренной ферментативной активности (Таблица).

Таким образом, верхний слой почвы на детских площадках может рассматриваться как резервуар для аккумуляции и распространения вирулентных штаммов потенциально патогенных видов дрожжей рода *Candida*. Присутствие условно-патогенных видов *C. parapsilosis* и *C. tropicalis* на детских площадках может представлять серьезную опасность для детей и подростков, чья иммунная система еще недостаточно развита, а также в целом для растущей доли городского населения, иммунитет которого снижается при постоянном воздействии множества неблагоприятных антропогенных факторов в городской среде.

Табл. 1. Показатель гидролитической активности (Pz, ошибка среднего) штаммов *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*, выделенных из верхнего слоя почвы на территории детских площадок в г. Москве.

Вид дрожжей	Число исследованных штаммов	Фосфолипазы		Гемолизины		Протеазы	
		% активных штаммов	Pz	% активных штаммов	Pz	% активных штаммов	Pz
<i>C. parapsilosis</i>	60	15/60 (25)	0.54 ±0.46	31/60 (51)	0.82 ±0.32	60/60 (100)	0.64 ±0.38
<i>C. tropicalis</i>	28	28/28 (100)	0.39 ±0.24	16/28 (57)	0.80 ±0.34	28/28 (100)	0.57 ±0.31

Работа выполнена в рамках темы госзадания МГУ № 121040800174–6.

Исследование выполнено с использованием научного оборудования центра коллективного пользования «НИИВС им. И.И. Мечникова» – при финансовой поддержке проекта Российской Федерации в лице Минобрнауки России. Соглашение № 075–15-2021-676 от 28.07.2021.

Список литературы

1. Botha A. The importance and ecology of yeasts in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 2011. 43(1). 1–8. DOI:10.1016/j.soilbio.2010.10.001

2. Yurkov A.M. Yeasts of the soil—obscure but precious. *Yeast*. 2018. 35(5). 369–378. DOI:10.1002/yea.3310

3. Tepeeveva A.N., Glushakova A.M., Kachalkin A.V. Yeast communities of the Moscow city soils. *Microbiology*. 2018. 87. 407–415. DOI:10.1134/S0026261718030128

4. Naz S.A., Yaseen M., Jabeen N., Shafique M. Isolation of potentially pathogenic fungi from selected pigeons’ feeding sites in Karachi: A new dimension to health hazard. *JPM J. Pak. Med. Assoc.* 2017. 67. 901–906.

5. Ribeiro E.A., Tomich G.M., Alves J.A.G., Santos K. Occurrence of *Cryptococcus neoformans* in the excreta of urban pi-geons in the municipality of Redenção in Amazônia, Brazil. *Acta Biomedica Brasiliensia*. 2019. 10(1). 27–34. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7882214>

6. Pereira R.S., Dos Santos H.D.H., Moraes O.S., Júnior D.P.L., Hahn R.C. Children’s public health: Danger of exposure to pathogenic fungi in recreational places in the middle-west region of Brazil. *Journal of infection and public health*. 2020. 13(1). 51–57. DOI:10.1016/j.jiph.2019.06.018

7. Kumar S., Kumar A., Roudbary M., Mohammadi R., Černáková L., Rodrigues C. F. Overview on the infections related to rare *Candida* species. *Pathogens*. 2022. 11(9). 963. DOI:10.3390/pathogens11090963

8. Wang Q., Cai X., Li Y., Zhao J., Liu Z., Jiang Y., Meng L., Li Y., Pan S., Ai X., Zhang F., Li R., Zheng B., Wan Z., Liu W. Molecular identification, antifungal susceptibility, and resistance mechanisms of pathogenic yeasts from the China antifungal resistance surveillance trial (CARST-fungi) study. *Frontiers in Microbiology*. 2022. 13. 1006375. DOI:10.3389/fmicb.2022.1006375

9. Solo-Gabriele H., Brandão J., Gordon B., Ferguson A. Recreational Environment: Pathogenic Fungi in Public Places, Information Gaps in Assessing Public Health Risk. In *Environmental Mycology in Public Health*, 1st ed.; Viegas C., Pinheiro C., Verissimo Cr., Sabino R., Brandão J., Viegas S., Eds. Elsevier. Netherlands. 2016. pp. 167–192. DOI:10.1016/B978-0-12-411471-5.00013-2

10. Wójcik A., Kurnatowski P., Błaszowska J. Potentially pathogenic yeasts from soil of children’s recreational areas in the city of Łódź (Poland). *International journal of occupational medicine and environmental health* 2013. 26(3). 477–487. DOI:10.2478/s13382-013-0118-y

11. World Health Organization 2022. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>

12. Glushakova A., Rodionova E., Kachalkin A. Evaluation of opportunistic yeasts *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis* in topsoil of children’s playgrounds. *Biologia*. 2024. DOI:10.1007/s11756-024-01643-3

13. Rossoni R.D., Barbosa J.O., Vilela S.F.G., Santos J.D.D., Jorge A.O.C., Junqueira J.C. Correlation of phospholipase and proteinase production of *Candida* with in vivo pathogenicity in *Galleria mellonella*. *Braz. J. Oral Sci.* 2013. 12. 199–204.

14. Jammil N.A.N., Yehia M.M. Virulence Factors of Yeasts Isolated From Oral Lesions. *Annals of the College of Medicine, Mosul*. 2020. 41(2). 170–177. DOI:10.33899/mmed.2020.164160

15. Kachalkin A.V., Glushakova A.M., Venzhik A.S. Presence of clinically significant endophytic yeasts in agricultural crops: monitoring and ecological safety assessment. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2021. 723. 042005. DOI:10.1088/1755-1315/723/4/042005

16. Price M.F., Wilkinson I.D., Gentry L.O. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*. 1982. 20. 7–14. DOI:10.1080/00362178285380031

17. Rüchel J., Tegeler R., Trost M.A. A comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. *Sabouraudia*. 20(3). 233–244. DOI:10.1080/00362178285380341

18. Luo G., Samaranayake L.P., Yau J.Y. *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. *Journal of Clinical Microbiology*. 2001. 39(8). 2971–2974. DOI:10.1128/JCM.39.8.2971-2974.2001

19. Abi-Chacra E.A., Souza L.O., Cruz L.P., Braga-Silva L.A., Gonçalves D.S., Sodre C.L., Ribeiro M.D., Seabra S.H., Figueiredo-Carvalho M.H.G., Barbedo L.S., Zancoppe-Oliveira R.M., Ziccardi M., Santos A.L. Phenotypical properties associated with virulence from clinical isolates belonging to the *Candida parapsilosis* complex. *FEMS Yeast Research*. 2013. 13(8). 831–848. DOI:10.1111/1567-1364.12092

ВНУТРИВИДОВАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ *CANDIDA* ПО ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К МИКОЦИНАМ

Голубев В.И.
ВКМ, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Пуццино

Видовая идентификация аспорогенных дрожжей осуществляется, главным образом, на основании различий в способности их культур утилизировать источники азота и углерода. Нередко, однако, она ненадежна вследствие вариабельности, изменчивости этих характеристик, что демонстрируют данные молекулярно-биологических исследований. Еще одну возможность проверки корректности идентификации, таксономической гомогенности видов представляет микоцитипирование, т.е. изучение чувствительности культур к микоцинам с известными спектрами действия (Голубев, 2012).

Табл. 1.

Типовые штаммы видов, их синонимов	<i>W. anomalus</i> 159	<i>W. ciferrii</i> 169	<i>W. silvicola</i> 178
2100 <i>C. blankii</i> 2603 (<i>C. carbohydrofumarica</i>)	- +	- +	- с
36 <i>C. catenulata</i> 5 (<i>Blastodendron brumptii</i>) 65 (<i>C. ravautii</i>)	+ - +	- - с	+ - +
67 <i>C. rugosa</i> 1511 (<i>C. rugosa</i> var. <i>elegans</i>)	+ -	+ с	+ -
124 <i>C. sake</i> 700 (<i>Torula lambica</i>) 1463 (<i>C. salmonicola</i>) 1499 (<i>C. vanrijii</i>)	- с + +	- с + +	- с с +

«+» – чувствителен, «-» – нечувствителен, «с» – слабо чувствителен; в скобках названия синонимов

Обследование поддерживаемых во Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ) типовых штаммов некоторых видов *Candida* и носителей их синонимов выявило между ними различия по чувствительности к микоцинам трех видов *Wickerhamomyces* (табл.). Активность микоцинов, как правило, ограничена филогенетически родственными организмами и найденные отличия указывают на таксономическую отдаленность этих штаммов, наименования которых рассматриваются в настоящее время в качестве синонимов, тогда как они, вероятно, представляют собой отдельные, самостоятельные виды.

Нечувствительность может быть обусловлена также иммунитетом микоциногенных штаммов к собственным микоцинам. Проведенное, однако, внутривидовое тестирование штаммов ВКМ Y-5, 124 и 2100 не обнаружило у них микоциногенной активности.

Список литературы

1. Голубев В.И., 2012. Микоцитипирование. Микология и фитпатология т. 46, вып. 1, 3-13.

РАЗНООБРАЗИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ДРОЖЖЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОСИСТЕМ ВОСТОЧНОЙ АНТАРКТИДЫ

Грибанова Е. А.¹, Охремчук Е. В.², Семенчукова Е. А.², Мямин В.Е.³
¹БГУ, биологический факультет, Минск
²Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск
³НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам, Минск

В морских, континентальных регионах Антарктики и субантарктической зоне обитает более тысячи видов микроскопических грибов (мицелиальных грибов, дрожжей). Преимущественно это космополитные виды, и только некоторые являются психрофильными либо психротолерантными микроорганизмами [1, 2].

В работе использованы восемь образцов мелкоземов (6 гиполитных и 2 эндолитных) из Восточной Антарктиды (станция Молодежная, полевая база Гора-Вечерняя (Земля Эндерби), горы Принс-Чарльз (Земля Мак-Робертсона)). Образцы были отобраны участниками Белорусских антарктических экспедиций в период в 2015–2017 гг.

Предварительно была проведена работа по выделению гиполитных и эндолитных дрожжей Восточной Антарктиды и изучены их морфологические и физиолого-биохимические свойства [3].

Целью данного исследования являлось проведение видовой идентификации дрожжей с помощью молекулярно-биологических методов, а также анализ

биотехнологического потенциала идентифицированных изолятов.

Первичную таксономическую идентификацию микроорганизмов проводили с использованием прибора microflex LRF MALDI-TOF (Bruker Daltonics) при поддержке «Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси». Полученные спектры анализировали с помощью программного обеспечения «MALDI Biotyper».

Применение МАЛДИ ВР МС в половине случаев (12 изолятов) не позволило достоверно определить таксономическую принадлежность исследуемых дрожжей (параметр достоверности ниже 1,700). Для 7 изолятов установлена возможная родовая принадлежность (параметры достоверности в пределах от 1,700 до 1,999), 6 из них отнесены к виду *Sporobolomyces roseus* (изоляты 4–1, 4–7, 4–9, 4–10, 4–11 и 7–71) и один — к *Pseudozyma aphidis* (изолят 1–15). Достоверно до рода был идентифицирован один изолят (1–32), который предположительно относится к виду *Pseudozyma aphidis* (параметр

достоверности от 2,000 до 2,299). Один изолят (2–2) достоверно идентифицирован до вида *Cryptosoccus liquefaciens* (параметр достоверности от 2,300 до 3,000).
Полученные результаты свидетельствовали о необходимости проведения более точной идентификации антарктических культур дрожжей путем определения нуклеотидных последовательностей фрагментов генов 18S рРНК методом секвенирования по Сенгеру. Для этого на матрице хромосомной ДНК дрожжей проведена амплификация фрагментов генов 18S рРНК с использованием праймеров NS1 и NS4. Ожидаемый размер продуктов амплификации — ~1100 пар нуклеотидов. Целевые фрагменты были клонированы в составе плазмиды pJET1.2 в клетках *E. coli* XL1-Blue.

Определение нуклеотидных последовательностей фрагментов генов 18S рРНК проводили с помощью метода Сенгера: использовали набор реактивов «DNA Cycle Sequencing Kit» (PCR-401S, Jena Bioscience) и меченые Су5.5-меткой праймеры pJET-F, pJET-R. Продукты секвенирующей реакции детектировали с помощью автоматического секвенатора 4300 DNA Analyzer (Li-COR). Полученные результаты расшифровывали с помощью программы eSeq версия 3.1. Для сравнения полученных нуклеотидных последовательностей использовали пакет программ Blast и базы данных ГенБанка (RefSeq) на сервере Национального центра биотехнологической информации США. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Табл. 1. Принадлежность последовательности гена 18S рРНК к ближайшим филогенетическим соседям, температура выделения и физиологические параметры дрожжей, выделенных из образцов мелкозёма Восточной Антарктиды.

Код изолята	Коллекционный номер	Ближайший таксономический сосед по выравниванию	Идентичность (%)	Температура изоляции (°C)	Термотолерантность (°C)	Ферментативная активность при 18 °C
1–15	БИМ Y-380	<i>Moesziomyces parantarcticus</i> JCM 11752	99,26	18	10–37	prt, lip, amy
1–32	БИМ Y-365	<i>Moesziomyces parantarcticus</i> JCM 11752	99,82	18	10–37	prt, lip, amy
1–16.1	БИМ Y-363	<i>Leucosporidium fragarium</i> CBS 6254	99,64	18	4–28	prt, lip, amy, cell
1–16.2	БИМ Y-364	<i>Leucosporidium</i> sp. CBS 6254	99,54	18	4–28	prt, lip, amy, cell
3–39	БИМ Y-377	<i>Leucosporidium</i> sp. CBS 6254	99,45	18	4–28	prt, lip, amy, cell
2–2	БИМ Y-379	<i>Naganishia</i> sp. JCM 9424	99,73	18	4–28	lip, amy
3–26	БИМ Y-375	<i>Rhodotorula glutinis</i> CBS 20	99,91	18	4–28	lip, amy
3–38	БИМ Y-376	<i>Rhodotorula glutinis</i> CBS 20	100,00	18	4–28	lip, amy
4–9	БИМ Y-369	<i>Rhodotorula glutinis</i> CBS 20	100,00	18	4–28	lip, amy
2–3	БИМ Y-382	<i>Mycochaetophora gentianae</i> MAFF 239231	99,72	18	4–28	lip, amy
4–1	БИМ Y-378	<i>Sporobolomyces phaffii</i> CGMCC AS 2.2137	99,82	18	4–28	lip, amy
4–7	БИМ Y-367	<i>Sporobolomyces phaffii</i> CGMCC AS 2.2137	99,91	18	4–28	lip, amy
4–10	БИМ Y-374	<i>Sporobolomyces phaffii</i> CGMCC AS 2.2137	99,73	18	4–28	lip, amy
4–11	БИМ Y-370	<i>Sporobolomyces phaffii</i> CGMCC AS 2.2137	99,82	18	4–28	lip, amy
7–71	БИМ Y-371	<i>Sporobolomyces phaffii</i> CGMCC AS 2.2137	99,82	18	4–28	lip, amy
7–180	БИМ Y-372	<i>Sporobolomyces phaffii</i> CGMCC AS 2.2137	99,82	18	4–28	lip
4–6	БИМ Y-366	<i>Cystobasidium ritchiei</i> JCM 3780	99,52	18	4–22	lip
4–8	БИМ Y-368	<i>Cystobasidium ritchiei</i> JCM 3780	99,62	18	4–22	lip
8–36	БИМ Y-373	<i>Solicoccozyma terricola</i> CBS 4517	99,44	18	4–22	lip, amy
Т3–1	БИМ Y-381	<i>Glaciozyma antarctica</i> CBS 8943	98,61	10	4–10	prt*, lip*, gel*
Exo	БИМ Y-383	<i>Dothiora cannabinae</i> CBS 737.71	99,54	18	4–32	lip, amy

Примечания: «*» — ферментативные активности исследовали при 10°C; prt — протеолитическая активность (Calcium-casein agar), lip — липолитическая активность (Twin 80/20), amy — амилалитическая активность, cell — целлюлолитическая активность, gel — желатиназная активность

Культуры дрожжей были депонированы в Белорусскую коллекцию непатогенных микроорганизмов в 2023 году (научную коллекцию типовых и промышленно ценных штаммов микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси).
Таким образом, по результатам идентификации дрожжей Восточной Антарктиды с помощью МАЛДИ ВП МС и определения нуклеотидной последовательности фрагмента гена 18S рРНК была установлена таксономическая принадлежность дрожжей Восточной Антарктиды. Полученные результаты свидетельствуют о том, что секвенирование гена 18S рРНК на данный момент является более информативным методом для идентификации антарктических дрожжей.

Биотехнологический потенциал антарктических дрожжей:
Изоляты 1–15 и 1–32 относятся к головневым грибам семейства *Ustilaginaceae*: **роду** *Moesziomyces* (синоним — *Pseudozyma*), виду *Moesziomyces parantarcticus* (ранее *Pseudozyma parantarctica*) [4]. Представители рода *Moesziomyces* являются продуцентами липаз, белковых и гликолипидных биосурфактантов (например, устиловой кислоты), актиномикотиков, итаконовой кислоты [5].
Изоляты 1–16.1, 1–16.2 и 3–39 идентифицированы как вид базидиальных грибов семейства *Leucosporidiaceae* — *Leucosporidium fragarium*. Пред-

ставители рода *Leucosporidium* являются типичными обитателями холодных экосистем полярных регионов (Арктики и Антарктики) [6]. Представители рода *Leucosporidium* являются продуцентами коферментов Q9 и Q10, ферментов, активных при низких температурах (L-аспарагиназа, липаза) [7], участвуют в биодеградации фенольных соединений [8].

Изолят 2–2 относится к базидиальным грибам семейства *Filobasidiaceae*, роду *Naganishia*. На основании идентификации с помощью МАЛДИ ВП МС, изолят 2–2 относится к виду *Naganishia liquefaciens* — потенциальному продуценту липидов [9].

По результатам таксономической идентификации установлено, что изолят 2–3 относится к *Mycochaetophora gentianae* — фитопатоген. Примечательно, что *M. gentianae* вызывает появление бурой пятнистости у *Gentiana triflora* при пониженных температурах [10].

Три изолята (3–26, 3–38, 4–9) идентифицированы как представители вида *Rhodotorula glutinis*, базидиомицетов семейства *Sporidiobolaceae*, впервые выделенных на территории Антарктиды. Данные микроорганизмы продуцируют липиды с высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот (олеиновой и пальмитиновой). Интерес представляют и каротиноиды *R. glutinis* (β каротин, β криптоксантин, торулен и торулародин), состав и соотношение которых влияют на окраску клеток данных микроорганизмов (от розового до красного) [11].

Шесть изолятов (4–1, 4–7, 4–10, 4–11, 7–71, 7–180) принадлежат к виду *Sporobolomyces phaffii*, грибам-базидиомицетам семейства *Sporidiobolaceae*. Представители рода *Sporobolomyces* также являются продуцентами торулена, торулародина, γ и β каротина [12].

Изоляты 4–6 и 4–8 идентифицированы как вид базидиальных грибов из семейства *Cystobasidiaceae* — *Cystobasidium ritchiei*. Данные микроорганизмы обнаруживают в различных средах обитания (водоемах, связанных с почвой субстратах, на поверхности листьев, надледниковых отложениях) [13]. При изучении представителей родов *Leucosporidium* и *Cystobasidium* было выявлено, что их экзополисахариды повышают продукцию гамма-интерферона в макрофагах селезенки мышей и естественных киллерах, что, в свою очередь, усиливает клеточный иммунный ответ [14].

Изолят 8–36 относится к виду базидиальных грибов семейства *Piskurozymaceae* — *Solicoccozyma terricola* (ранее — *Cryptococcus terricola*). Установлено, что профиль жирных кислот, продуцируемых *S. terricola* схож с пальмовым маслом. Таким образом, данные дрожжи можно рассматривать в качестве перспективных продуцентов масел для топливной, пищевой и косметической промышленности [15].

Изолят Т3–1 по результатам идентификации отнесен к виду *Glaciozyma antarctica* (базидиальным грибам семейства *Camptobasidiaceae*). Представители данного рода ранее были выделены из морского льда Антарктики. Данные микроорганизмы являются психрофильными, и их ферменты (хитиназы, эстеразы, экзо- β -1,3-глюканазы, ламинариназы, β маннаназы, α амилазы и липазоподобные эстеразы) адаптированы к работе при пониженных температурах [16].

На основании сравнения нуклеотидной последовательности фрагмента гена 18S рРНК изолята Ехо с имеющимися в базе данных ГенБанк однозначно установить родовую принадлежность изолята не удалось. Вероятно, Ехо является представителем вида *Dothiora cannabinae* либо *Cryomyces antarcticus*. Оба вида принадлежат классу

аскомицетов *Dothideomycetes*. Интересно, что *Cryomyces antarcticus* был выделен из Сухих долин Мак-Мердо в Антарктиде, считающихся аналогом поверхности Марса в силу низких температур, сухого климата и сильного УФ-излучения [17]. *C. antarcticus* является одним из самых экстремофильных эукариотических организмов, известных на сегодняшний день [18].

Список литературы

1. Fungi in Antarctica / S. Ruisi [et al.]. Rev Environ Sci Biotechnol. — 2007. — Vol. 6, № 1. — P. 127–141.
2. Antarctic microfungi as models for exobiology: Exploring Mars Surface and its Earth Analogues / S. Onofri [et al.]. Planetary and Space Science. — 2004. — Vol. 52, № 1. — P. 229–237.
3. Gribanova E. et al. Physiological and biochemical traits of yeasts from soils of various ecosystems of East Antarctica. Ukrainian Antarctic journal. — 2021. — № 2. — P. 106–116.
4. Kidd S. E. et al. Fungal Nomenclature: Managing Change is the Name of the Game. Open Forum Infectious Diseases. — 2023. — Vol. 10, № 1. — P. ofac559.
5. Biotechnological production of value-added compounds by ustilaginomycetous yeasts / B. N. Paulino [et al.]. Appl Microbiol Biotechnol. — 2017. — Vol. 101, № 21. — P. 7789–7809.
6. A cold-adapted extracellular serine proteinase of the yeast *Leucosporidium antarcticum* / M. Turkiewicz [et al.]. Extremophiles. — 2003. — Vol. 7, № 6. — P. 435–442.
7. Extracellular Enzymes and Bioactive Compounds from Antarctic Terrestrial Fungi for Bioprospecting / L. Zucconi [et al.]. Int J Environ Res Public Health. — 2020. — Vol. 17, № 18. — P. 6459.
8. Phenol degradation and heavy metal tolerance of Antarctic yeasts / P. M. Fernández [et al.]. Extremophiles. — 2017. — Vol. 21, № 3. — P. 445–457.
9. Selvakumar P. et al. Study on Lipid Accumulation in Novel Oleaginous Yeast *Naganishia liquefaciens* NITTS2 Utilizing Predigested Municipal Waste Activated Sludge: a Low-cost Feedstock for Biodiesel Production. Appl Biochem Biotechnol. — 2018. — Vol. 186, № 3. — P. 731–749.
10. Nekoduka S. et al. Pathogenicity of *Mycochaetophora gentianae*, causal fungus of gentian brown leaf spot, as affected by host species, inoculum density, temperature, leaf wetness duration, and leaf position / J Gen Plant Pathol. — 2010. — Vol. 76, № 6. — P. 370–376.
11. Maza D. D. et al. *Rhodotorula glutinis* T13 as a potential source of microbial lipids for biodiesel generation Journal of Biotechnology. — 2021. — Vol. 331 — P. 14–18.
12. Cobban A. et al. Revisiting the pink-red pigmented basidiomycete mirror yeast of the phyllosphere MicrobiologyOpen. — 2016. — Vol. 5, № 5. — P. 846–855.
13. Turchetti B. et al. *Cystobasidium alpinum* sp. nov. and *Rhodospodiobolus oreadorum* sp. nov. from European Cold Environments and Arctic Region. Life (Basel). — 2018. — Vol. 8, № 2. — P. 9.
14. Rusinova-Videva S. et al. Chemical characterization and biological effect of exopolysaccharides synthesized by Antarctic yeasts *Cystobasidium ongulense* AL101 and *Leucosporidium yakuticum* AL102 on murine innate immune cells. World J Microbiol Biotechnol. — 2022. — Vol. 39, № 2. — P. 39.
15. Filippucci S. et al. Study of *Holtermanniella wattica*, *Leucosporidium creatinivorum*, *Naganishia adeliensis*, *Solicoccozyma aerea*, and *Solicoccozyma terricola* for their lipogenic aptitude from different carbon sources /. Biotechnol Biofuels. — 2016. — Vol. 9 — P. 259.
16. Yusof N. A. et al. Cold Adaptation Strategies and the Potential of Psychrophilic Enzymes from the Antarctic Yeast, *Glaciozyma antarctica* PI12. Journal of Fungi. — 2021. — Vol. 7, № 7. — P. 528.

17. Pacelli C. et al. Cryptoendolithic Antarctic Black Fungus *Cryomyces antarcticus* Irradiated with Accelerated Helium Ions: Survival and Metabolic Activity, DNA and Ultrastructural Damage. *Frontiers in Microbiology*. — 2017. — Vol. 8.

18. Sterflinger K. Et al. Nothing Special in the Specialist? Draft Genome Sequence of *Cryomyces antarcticus*, the Most Extremophilic Fungus from Antarctica. *PLOS ONE*. — 2014. — Vol. 9, № 10. — P. e109908.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ ДРОЖЖЕЙ

Колтовая Н. А.

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

Существует много теорий старения [1,2], одна из них **параметаболитическая теория старения**, предложенная Дж. Бартоз в 1981 году, согласно которой реакционная способность молекул, обеспечивающих жизнедеятельность организмов, выходит за рамки того, что нужно для выполнения биологических функций, а избыточные химические потенциалы реализуются организмом во вред. Известно, что электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) генерирует супероксид анион-радикалы, которые высвобождаются в митохондриях, где они превращаются в перекись водорода благодаря Mn-супероксиддисмутазе (Mn-SOD). Образовавшиеся активные формы кислорода (АФК) могут повреждать структуры клетки. Согласно митохондриальной теории старения дисфункция митохондрий вызывает снижение количества энергии, повышение уровня свободных радикалов кислорода и азота, что в свою очередь вызывает активацию сигнальных путей воспаления, повреждения митохондриальной ДНК (мтДНК), перекисное окисление липидов, повреждение долгоживущих молекул (гистоны, белки ядерных пор, структурные белки), эпигенетические изменения в ядерной ДНК (ядДНК), геномную нестабильность, индуцируется апоптоз.

Однако, все не так просто. Оказалось, что мутации мтДНК вызваны скорее ошибками репликации, чем окислительными повреждениями [3]. С другой стороны, хотя мыши с дефектной мтДНК имеют сниженное количество копий мтДНК и проявляют ускоренное старение, но старение коррелирует с увеличением повреждений ядДНК в соматических клетках в результате дефицита нуклеотидов, которые усиленно потребляет митохондрия [4]. При изучении ассоциированной с возрастом геномной нестабильности анализ дрожжевых родословных [5] показал, что образование митохондриальных делеционных мутантов *petite* приводит к возрастанию ядерной геномной нестабильности [6].

Изучение механизмов стабилизации мт генома и старения клеток представляет несомненный научный и практический интерес. Хорошей моделью для изучения мт генома являются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Будучи одноклеточным эукариотом, они имеют то преимущество, что являются самым простым и короткоживущим организмом среди основных эукариотических модельных систем старения. Тем более, что для дрожжей даже удаление мтДНК (*rho*⁰ мутанты) не является гибельным. В дрожжевой клетке содержится ~50-100 копий мтДНК, нативных (*rho*⁺) или делетированных (*rho*⁻).

Для дрожжей *S. cerevisiae* существует две модели старения клеток: репликативная и хронологическая. **Репликативное старение** (РС) определяется как число митотических циклов, совершаемых материнской клеткой перед тем как она станет senescence, и может служить моделью старения митотически-активных клеток в многоклеточном организме. **Хронологическое старение** (ХС) относится к величине времени, при котором

неделяющаяся клетка сохраняет жизнеспособность в стационарной фазе, и служит моделью старения пост-митотических клеток в культуре.

При репликативном старении выделяют два важнейших фактора.

Первый – это выщепление кольцевой рДНК (ERC – *extrachromosomal rDNA circles*), предполагается, что накопление колец до токсичного уровня в материнской клетке ведет к старению [7]. Sir2 представляет собой НАД-зависимую гистондеацетилазу, активность которой необходима для того, чтобы способствовать подавлению хроматина в теломерах, локусах типа спаривания и рДНК [8]. Повышение дозы гена *SIR2* замедляет РС, ингибируя рекомбинацию рДНК и, следовательно, образование ERC [9]. Хотя этот механизм старения не наблюдался ни у одного другого вида, было показано, что Sir2 играет консервативную антивозрастную роль у высших эукариот. Показано, что сиртуины Sirt1, Sirt3 и Sirt6 могут тормозить старение человека посредством многих сигнальных путей, включая сигнальные пути апоптоза, mTOR, сиртуинов, AMPK, фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) [10].

Второй фактор – это окислительные повреждения белков и белковых агрегатов, вызванные АФК. Агрегаты, образованные поврежденными белками с неправильной упаковкой, потенциально токсичны и ассоциируются с фенотипом стареющих клеток. Хотя АФК образуются такими ферментами и процессами как мембран-ассоциированная NADPH оксидаза, окисление жирных кислот в пероксисомах и система расщепления дисульфидных белковых связей в эндоплазматическом ретикуломе (ЭР), все же митохондрии являются основным источником АФК. Снижение РС у штамма BY4741, вызванное нарушением дыхания, связано не с сайленсингом рДНК, а с повышением АФК. У дыхательных мутантов уровень АФК регулировался NADPH-оксидазой Yno1, RAS-опосредованным путем, независимо от TOR-и PKA-сигнальных систем [11]. С другой стороны, РС зависит от активности ЭТЦ. У ЭТЦ-мутантов снижена активность транскрипционных факторов Cat8 и Aft1. Резкое снижение жизнеспособности ЭТЦ мутантов наблюдается в процессе диауксического сдвига [12] и супрессируется мутациями, участвующими в Ras/PKA, PPA и TORC1 путях регуляции метаболизма через ретроградную систему (RTG - *RetroGrade regulation*) [12-15], осуществляющую коммуникацию ядер, митохондрий и пероксисом.

Эффект нарушения дыхания на РС зависит от штамма [16]. Так для штамма YPK9 мутации *rho*⁰ и *rho*⁻ приводят к повышению жизнеспособности, для штамма A364A – к снижению, а у штамма W303-1A – не влияют. Этот эффект зависит от активности RTG. Ретроградный ответ позволяет клеткам обнаруживать и реагировать на повреждение митохондрий. Сигнал, возможно

падение мт потенциала ($\Delta\psi_m$), передается белком Rtg2, который активирует последующий транскрипционный фактор Rtg1/Rtg3, что приводит к активации групп генов, участвующих в реакции на стресс, метаболизме азота, путях гликолиза и увеличении продолжительности жизни. Активация RTG, генетически (*petite*) или внешними условиями (диауксический сдвиг), коррелирует с увеличением репликативного потенциала. Делеция гена *RTG2* элиминирует увеличение репликативного потенциала. RTG, по-видимому, конститутивно активна в некоторых штаммах, например W303-1A.

В то же время Rtg2-зависимая активация процессов приводит к Rtg2-зависимой депрессии ERC/рДНК pol-II [17]. Индукция *petites* приводит к образованию ERC в делящихся клетках [18]. Влияние RTG на продолжительность жизни возможно является лишь побочным эффектом синтеза ERC, несущих ген *TAR1*, основной целью которого является предотвращение распространения митохондрий с дефицитом дыхания [17]. Таким образом, продолжительность жизни у делящихся *petites* больше, чем у *grands* клеток. Хотя при хранении *petites* гибнут быстрее. Возможно, эта причина объясняет, частично, почему поддерживаются линии с высокой *rho*⁻ мутабельностью. Продление жизни не связано с нарушением дыхания как таковым, а, следовательно, и с продукцией АФК. Однако, это не означает, что дрожжи полностью защищены от эффектов оксидативных повреждений. Как и у большинства организмов, увеличение продолжительности жизни дрожжей связано, по-видимому, с увеличением устойчивости к окислительному стрессу. Все долгоживущие мутанты дрожжей устойчивы к супероксид-генерирующим агентам менадиону и параквату. При этом для увеличения продолжительности жизни необходима активность митохондриальной Mn-SOD [19].

Сигнальный путь Ras/PKA участвует также в хронологическом старении, увеличение гибели клеток с течением времени в стационарной культуре дрожжей. У *S. cerevisiae* есть два белка Ras, Ras1 и Ras2, которые взаимодействуют с ферментом аденилатциклазой (Cyr1) и стимулируют выработку циклической АМФ (цАМФ). Повышенный внутриклеточный уровень цАМФ, в свою очередь, приводит к активации цАМФ-зависимой протеинкиназы PKA. Сигнальный путь Ras/PKA, по-видимому, является ключевым регулятором пролиферации клеток, поскольку мутации, которые инактивируют этот путь, приводят к преждевременному вступлению в состояние покоя, известное как стационарная фаза. Дрожжевые клетки обычно входят в это состояние покоя в ответ на недостаток питательных веществ. Потеря функции одного из белков Ras2 или Cyr1 приводит к увеличению хронологической продолжительности жизни дрожжей до двух раз.

Однако в 2009 году было показано, что основной причиной хронологического старения и смерти дрожжей в стационарной культуре является накопление в среде продукта метаболизма дрожжей — уксусной кислоты [20]. При этом было показано, что дрожжи не умирали от недостатка питательных веществ в среде. Культивирование дрожжей на неферментируемой среде, ограничение питательных веществ и перенос дрожжей в воду увеличивает продолжительность жизни дрожжей в результате уменьшения количества уксусной кислоты в среде. Дрожжи культивировали на питательной среде (SDC) и в воде, и средняя продолжительность жизни в воде была больше примерно в два раза. Это согласуется с данными о том, что ограничение питания замедляет

старение. Также было показано, что делеции по генам *SCH9* (участвует в регуляции цАМФ) и *RAS2*, влияющие на хронологическое старение, приводят к увеличению устойчивости к уксусной кислоте.

Теломеры, концы эукариотических хромосом, защищают их от слияния и деградации, предотвращают их ошибочную идентификацию как двунитевых разрывов (ДНР), что может привести к нежелательным хромосомным перестройкам, и таким образом, помогают поддерживать целостность и стабильность генома. Длина теломер строго контролируется у всех организмов. У большинства эукариот теломерная ДНК состоит из tandemных повторов, общая длина которых варьируется у разных организмов, но всегда строго регулируется. Теломерная последовательность ДНК синтезируется теломеразой. У человека теломеры укорачиваются с каждым событием дупликации клеток и с возрастом. Вызванное теломерами старение лежит в основе множества генетических нарушений человека, для которых короткие теломеры являются распространенным молекулярным дефектом. С другой стороны, у людей неадекватное удлинение теломер приводит к предрасположенности к раку и способствует выживанию раковых клеток.

Большинство стрессов окружающей среды не изменяют длину теломер у почкующихся дрожжей *S. cerevisiae* [21]. Тем не менее, воздействие нескольких специфических стрессовых факторов окружающей среды, таких как этанол (YPD с 5% этанолом) или уксусная кислота, индуцируют удлинение теломер, в то время как другие (например, кофеин) приводят к укорочению теломер [22]. Полногеномные исследования дрожжей выявили большое количество генов (~500), которые влияют на состояние теломер (*мутанты tlm*). Около половины из них имеют теломеры короче дикого типа, а другая половина — длинные теломеры [23]. Эти гены *TLM* кодируют белки с различной биохимической активностью, клеточной локализацией, участвующие в разных клеточных процессах.

У дрожжей экстремальная длина теломер (~5 раз длиннее, чем в среднем) не оказывала никакого влияния на жизнеспособность дрожжевых клеток [24]. В то же время укорочение теломер приводило к снижению жизнеспособности и ускоренному старению. Элиминация теломеразы у почкующихся дрожжей путем дефектов либо в каталитической субъединице, либо в трех регуляторных белках приводит к постепенному укорочению теломер и, в конечном итоге, блокированию дальнейшего деления клеток, называемого фенотипом Est (*ever shorter telomere*) [25]. Однако небольшое количество клеток способно избежать губительных последствий дефицита теломеразы посредством рекомбинационно-зависимого процесса, который происходит на более поздних стадиях старения, когда жизнеспособность серьезно нарушена [26]. Анализ генетической регуляции ранних стадий репликативного старения в отсутствие теломеразы, до появления рекомбинационно-опосредованного пути, показал, что белки Tel1, Rif2 и нуклеазный комплекс MRX (Mre11-Rad50-Xrs2) влияют эпистатически на репликативное старение. Хотя Rad51 действует после комплекса MRX в репарации ДНР, однако при репликации Rad51 (связываясь с зарождающейся ДНК защищает ее от MRX-опосредованной деградации на застрявших репликационных вилках) и при РС вносит независимый противоположный вклад.

Эпигенетика. К настоящему времени выделено несколько модифицирующих активностей, играющих роль в старении — это гистонацетилтрансферазная

(SAGA), гистондеацетилазная (Sir2), метилтрансферазная (Set1, Set2), диметилтрансферазная (Rph1), убиквитинлигазная (Rad6-E2/Bre1-E3). Например, механизм, связанный с выщеплением ERC, сокращает репликативную, но не хронологическую продолжительность жизни [7,27]. В образовании ERC участвует киназа CDK1/CDC28, регулирующая работу субъединицы Net1 комплекса RENT (Net1-Cdc14-Sir2-Sgs1), связывающего белок Sir2 в ядрышке. В локусе рДНК гистонацетилаза SAGA ацетилюет гистоны H3-K9,14. В то же время деацетилаза Sir2 осуществляет гипoaцетилирование гистонов H3-K9,14 и H4-K14. Кроме того, комплекс SAGA предотвращает сегрегацию ERC в дочерние клетки и накопление ERC в материнской клетке [28]. SAGA прикрепляет ERC к комплексу ядерных пор (NPC - *nuclear pore complex*) посредством комплекса TREX-2 (через нуклеопорины Nup1 и Nup60), тем самым предотвращая их прохождение перешейка между материнской клеткой и почкой. Связывание порами колец ДНК приводит к SAGA-зависимому накоплению ERC и NPC в старых материнских клетках. Так же проводились исследования модулей комплекса SAGA на продолжительность жизни. Показано, что клетки, утратившие DUB модуль комплекса SAGA долгоживущие, мутации снижают рекомбинацию рДНК и изменяют сайленсинг теломер-проксимальных генов [29]. Однако, комплекс Более того, SAGA необходим как для PC, так и XC [30].

В наших исследованиях мы показали влияние мутаций в генах *CDC28* (CDK1), *ADA1* (SAGA) и *NET1* (RENT), кодирующих компоненты модифицирующих комплексов на стабильность и копийность мтДНК, хронологическое старение, чувствительность к уксусной кислоте и индукцию апоптоза. Выявлено модифицирующее действие нарушения дыхания (митохондриальные *rho*⁰-мутации) на фоне изучаемых ядерных мутаций.

Список литературы

1. Голубев АГ. Биология продолжительности жизни и старения. Изд. Н-Л. 2015.
2. Благодатский А, Ржешевский А, Борисова О, Егорова А. Open longevity. Изд. ДМК. 2022.
3. Kauppila TES, Kauppila JHK, Larson N-G. 2017. Cell Metabolism 25: 57-71.
4. Hamalainen RH, Landoni JC, Ahlqvist KJ, et al. 2019. Nature Metabolism 1: 958-965.
5. McMurray MA, Gottschling DE. 2003. Science. 301: 1908-1911.

6. Veatch JR, McMurray MA, Nelson ZW, Goppschling DE. 2009. Cell 137 (7): 1247-1258.
7. Sinclair DA, Guarente L. 1997. Cell 91: 1033-1042.
8. Tanny JC, Dowd GJ, Huang J, et al. 1999. Cell 99 (7): 735-745.
9. Kaerberlein M, McVey M, Guarente L. 1999. Genes Dev. 13: 2570.
10. Wang T, Wang Y, Liu L, et al. 2020. Eur J Med Chemistry 193. 112207
11. Yi D-G, Hong S, Huh W-K. 2018. PLOS ONE, 0198619.
12. Lewis AG, Calswell R, Rogers JV, et al. 2021. Mol Biol Cell 32 (22): ar39: 1-15.
13. Akdoğan E, Tardu M, Garipler G, et al. 2016. PLoS ONE. 11(1): e0146511.
14. Dolz-Edo L, van der Deen M, Drul S, Smits GJ. 2019. Aging Cell 18(3): e12921.
15. Powers RW, Kaerberlein M, Caldwell SD, et al. 2006. Genes Dev. 20: 174-184.
16. Kirchnerman PA, Kim S, Lai CY, Jazwinski SM. 1999. Genetics 152: 179-190.
17. Poole M, Kobayashi T, Ganley ARD. 2012. Bioessays 34: 725-729.
18. Conrad-Webb H, Butow RA. 1995. Mol Cell Biol 15: 2420-2428.
19. Fabrizio P, Longo V. 2003. Aging 2: 73-81.
20. Burtner CR, Murakami CJ, Kennedy BK, Kaerberlein M. 2009. Cell Cycle 8: 1256-1270.
21. Romano GH, Harari Y, Yehuda T, et al. 2013. PLoS Genet 9: e1003721.
22. Harari Y, Romano GH, Ungar L, Kupiec M. 2013. Cell Cycle 12: 3465-3470.
23. Ungar L, Yosef N, Sela Y, et al. 2009. Nucleic Acids Res. 37: 3840-3849.
24. Harari Y, Zadok-Laviel S, Kupiec M. 2017. mBio 8(4): e01314-17.
25. Lendvay TS, Morris DK, Sah J, et al. 1996. Genetics 144 (4):1399-1412.
26. Lundblad V, Blackburn EH. 1993. Cell 73:347-360
27. Ganley AR, Ide S, Saka K, Kobayashi T. 2009. Mol Cell 35 (5): 683-693.
28. Denoth-Lippuner A, Krzyzanowski MK, Stober C, Barral Y. 2014. Elife 3:e03790.
29. McCornick MA, Mason AG, Guyenet SJ, et al. 2014. Cell Rep 8 (2): 477-486.
30. Lim S, Ahn H, Duon R, et al. 2021. Mech. Ageing & Dev. 196: 111480.

РОЛЬ ГРИБОВ *CANDIDA ALBICANS* В МЕЖМИКРОБНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ

^{1,2}Лисовская С.А., ^{1,3}Сафина Л.Ф., ³Каюмов А.Р.

¹Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора,

²Казанский ГМУ МЗ РФ

³Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального университета

Известно, что в микробных ассоциациях между разными видами складываются сложные взаимоотношения. Так, грибы и бактерии заселяя слизистые и кожные покровы, могут выступать в качестве возбудителей оппортунистических инфекций или провоцировать воспалительные реакции. Согласно различным литературным источникам, микробиом может влиять на болезнь через механизмы, опосредованные системными иммунными реакциями. Существует мнение о том, что у атопических больных в период ремиссии, при получении базисной терапии именно персистирующая инфекция провоцирует формирование «порочного круга», кото-

рый и является основой формирования хронических аллергических заболеваний. Инфекционные заболевания, обусловленные микроскопическими грибами *Candida albicans* все чаще, признаются серьезной угрозой для здоровья человека. Они на сегодня остаются одними из наиболее часто обнаруживаемых представителей микробиоценоза кожи и слизистых. Грибы *C. albicans* характеризуются генетической и фенотипической пластичностью. Особой формой фенотипической пластичности у грибов, является изменение симбиотической микробиоты. Данная способность наиболее ак-

туальна в условии макроорганизма, поскольку грибы у человека редко выделяются в монокультуре.

Целью данного исследования является проведение корреляционного и нейросетевого анализа микробиологического показателя *C. albicans* в микробиоценозе слизистой задней стенки глотки у пациентов с atopией и оценке основного фактора инвазии у грибов под воздействием бактерий (*S. aureus* и *K. pneumoniae*) в моделях *in vitro*.

Материалы и методы. Обследование больных и набор материала проводились в ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии. Исследовано 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. Диагностика заболеваний проводилась при комплексной работе аллерголога-иммунолога и оториноларинголога. Средний возраст пациентов с atopией составил - 40,5 (28,2-63,1). Контрольную группу «условно здоровые лица, средний возраст 43,9 (32,0-60,5). Все больные обследованы в период ремиссии, при получении базисной терапии, по контролю бронхиальной астмы. Классическое микробиологическое исследование образцов слизистой проводилось методами выделения чистой культуры на селективных и дифференциально-диагностических средах. Анализ микробиоценоза слизистой оболочки задней стенки глотки проводили с помощью метагеномного анализа (16s rRNA баркодирование).

Анализ гифообразования у грибов *C. albicans* при совместной инкубации с бактериями *S. aureus*, *K. pneumoniae* оценивали с помощью теста на образование герминативных (проростковых, или зародышевых) трубок. Культуры бактерий и грибов вносили в пробирки с 0,5 мл голодной средой и инкубировали при 37°C в течение 1-24 часов. При микроскопировании отмечали образование дрожжевыми клетками филаментов (зародышевых трубок) – предшественников истинных гиф.

Результаты и обсуждения. При изучении микрофлоры слизистой оболочки в группе с atopией было обнаружено значительное преобладание микроорганизмов, принадлежащих к роду *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Enterobacteriaceae* относительно контроля (превышает 10^3 - количество микрофлоры не требующей коррекции). Микроскопические грибы рода *Candida* в группе контроля обнаруживались в 45% случаях в количестве $<10^2$ КОЕ, тогда как в группе с atopией на слизистой обо-

лочке их концентрация составила достоверно выше относительно контроля $>10^{3-5}$ КОЕ. В группе с atopией на слизистой оболочке выявлено повышенное количество бактерий семейства *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella spp.*) и грибов *Candida non-albicans*. Исследование количественного состава основной условно-патогенной микрофлоры, являющейся этиологическим фактором развития бронхиальной астмы, показало значимые различия с контрольной группой. В группе с atopией во всех возрастах количество грибов *C. albicans* встречалось достоверно выше относительно контроля. Кроме того, в этой группе грибково-бактериальные ассоциации доминировали над поли-бактериальными ассоциациями. Анализ микробиоценоза слизистой оболочки задней стенки глотки в обеих группах с помощью метагеномного анализа (16s rRNA баркодирование) выявил присутствие 17 филов, 27 классов, 42 порядка, 71 семейства, 86 родов. При исследовании корреляционных взаимосвязей между изученными параметрами в исследуемых группах была выявлена положительная взаимосвязь между группой с atopией и некоторыми видами бактерий (*Staphylococcus aureus* и *Streptococcus spp.*) и грибов *Candida albicans*. Обнаружена взаимосвязь между группой atopией и индексом биоразнообразия. С помощью аддитивного анализа байесовской сети было показано снижение разнообразия микроорганизмов в ротовой полости у пациентов с диагнозом бронхиальная астма.

Проведя комплексное исследование показателей микрофлоры слизистой оболочки, оценив их особенности при аллергическом воспалении респираторного тракта, можно выявить маркеры прогрессирования патологии к бронхиальной астме, где важную роль выполняют грибы *C. albicans*.

При совместной инкубации *C. albicans* с культурами тест-штаммов бактерий, у *C. albicans* наблюдалось активное формирование трубок прорастания и псевдогиф, деление клеток было более активным. Образовывались бактериально - грибковые конгломераты, за счет адгезии клеток *K. pneumoniae* и *S. aureus* на сформировавшиеся трубки прорастания у клеток *C. albicans*. Уровень гифообразования у грибов *C. albicans* после их совместной инкубации с бактериями возрос в 2 - 4 раза по сравнению с контролем.

ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГРИБОВ РОДА CANDIDA

Николенко М.В., Барышникова Н.В., Сивкова Д.С., Еноктаева О.В.
Тюменский медицинский университет

На современном этапе развития науки доказано, что изменения физиологических функций живых организмов составляют замкнутые устойчивые циклы с периодом, стремящимся к астрономическим суткам (Комаров Ф.И., 1989; Wever R., 1972; 1980; Freivalds A. et al, 1983). Всякие отклонения от этой величины в ту или другую сторону невелики и зависят от количества перерабатываемой организмом информации и соответствующего расхода энергии. У грибов и растений они лежат в пределах 23 -28 часов, у животных - 23-25 часов (Куприянович Л.И., 1976).

Суточные биоритмы обнаружены у светящихся грибов F. Halberg et al. в 1958 году. Данные ритмы возникли для защиты реплицирующейся клетки от повреждающего действия ультрафиолета: репликация осуществлялась в «ночной» период цикла. Позднее был выявлен белок, названный vivid («яркий, живой»), содержащий хромофор (светоабсорбирующую молекулу), защищающую ДНК. Такая регуляция встречается у красной хлебной плесени *Neurospora crassa* (*N. crassa*). У грибов рода *Fusarium spp.* обнаружены циркадные ритмы токсинообразования (Монастырский О. А. с соавт., 2004).

Наблюдаемый в эксперименте волновой рост колоний плесневых грибов *N. crassa*, *Ulocladium chartarum* (*U. chartarum*) и *U. botrytis* представляет собой суточный колебательный процесс (Быстрова Е.Ю. с соавт., 2002). Установлено, что мезор скорости роста, в отличие от других ритмометрических параметров, не зависит от состава питательной среды (Быстрова Е.Ю., 2005). На амплитуду колебаний и профиль ритма роста влияет систематическое положение гриба, его возраст (возраст культуры), концентрация в среде основных источников питания и энергии, а также другие экологические факторы (Иванова А. Е., 2001). Установлено, что штаммы, выделенные из наиболее радиоактивно загрязненных местообитаний, обладают замедленной ритмичностью роста (более 24-х часов). Кроме того, установлено, чем продолжительнее цикл (24 - 48 часов), тем ниже скорость роста (Блажеевская Ю. В., 2002).

У грибов найдены околочные (ультрадианные) ритмы. Они отражают интенсивность биохимических процессов в физиологических системах. К характерным свойствам таких ритмов относятся: значительная нерегулярность (вариабельность периодов), устойчивость к внешним воздействиям и способность к адаптивному ответу на периодические раздражители. Будучи нерегулярными, с внешне хаотическими чередующимися периодами, околочные ритмы устойчивы по набору колебаний (Нечаева Н.В. с соавт., 1989; Lloyd A. et al., 1993). Исследования последних лет продемонстрировали наличие у микроскопических несовершенных грибов *Hyphomycetes* в цикле развития пульсирующего, околочасового процесса формообразования колоний. Подобные ростовые ритмы представляют интерес и как самостоятельное явление нелинейного характера, природа которого до сих пор не вполне ясна (Быстрова Е.Ю., 2001). В клетках плесневых грибов обнаружили ритмы колебаний концентраций ионов кальция с периодами порядка секунд - нескольких минут. Выявлено, что увеличение содержания внутриклеточного кальция и снижение мембранного потенциала, так же, как и уменьшение амплитуды их осцилляций может являться сигналом к запуску деления клетки (Замай Т. Н. с соавт., 2004). Ритмичные колебания концентраций ионов кальция, калия и натрия, возможно, определяют взаимодействие между клетками (Загускин С.Л., 1981). По данным В. Я. Бродского (1988; 2002); Y. Mano (1975) существуют околочные ритмы синтеза белка в клетках эукариот (грибов в том числе). Исследования, проведенные S. W. C. Edwards (1978), выявили высокочастотную периодичность процессов гликолиза и дыхания. В живой клетке дрожжевых грибов методами количественной микро-

скопии обнаружены ритмы коллоидных переходов от золя (жидкого состояния протоплазмы) в гель (студенистое состояние) и обратно. Изменения ритмометрических параметров золь-гель переходов: период, амплитуда, соотношение фаз преобладания геля или золя и форма этих колебаний существенным образом влияют на все клеточные функции и обмен веществ (Загускин С.Л., 1989).

Таким образом использование комплексного подхода с позиции хронобиологии к изучению физиологической активности дрожжевых грибов *Candida* может способствовать разработке нового направления в лабораторной диагностике для определения уровня адаптивности культуры к условиям существования.

Цель исследования: Доказано, что временная организация биологических свойств закономерна для каждого вида грибов. Хронологические ряды физиологической активности *C. albicans* характеризуются утренним типом ритмичности с идентичными значениями мезора, амплитуды и акрофазы.

Максимальная активность представителей данного вида регистрировалась во временном диапазоне с 03.00 до 12.00 часов: в ранние утренние часы - максимальная адгезивная способность, секреция ферментов патогенности (фосфолипазы, протеазы, каталазы) и формирование ростовых трубок; в дневное время - максимальная пролиферативная активность. Хронобиологическим методом выявлены физиологические особенности *C. non-albicans*. Обнаружены циркадианные колебания всех изучаемых показателей. Активность каталазы регистрировалась, как и у *C. albicans*, в двух спектрах ритма - $T=24$ часа и $T=12$ часов.

Для грибов *C. non-albicans* характерна синхронизация показателей активности адгезии и каталазы. Временные ряды биологических свойств *C. tropicalis* характеризовались дневным типом ритмичности, а *C. krusei* - вечерним и ночным типом. Определена последовательность проявления максимальной активности у *C. tropicalis* с 08.00-13.00 часов: ростовые свойства, секреция ферментов патогенности и морфогенеза, с 15.00-18.00 часов - адгезия и синтез каталазы.

У *C. krusei* отмечены значительные временные интервалы (с 01.00 до 16.00) отсутствия или проявления минимальной активности физиологических свойств. С 16.00 часов реализация биологического потенциала начиналась с пролиферации, с последующей максимальной способностью к адгезии, секреции ферментов агрессии и защиты - протеазы, каталазы и фосфолипазы и формированию ростовых трубок.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ КУЛЬТУР РОДА *CANDIDA* ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ

Низомова Д.К., Жураева Р.Н., Зайнитдинова Л.И., Ташпулатов Ж.Ж.
Институт микробиологии АН РУз, Ташкент

Длительное хранение культур микроорганизмов без потери хозяйственно-важных свойств обеспечивается различными методами, которые позволяют сохранить высокую биохимическую активность и генетическую

стабильность, что чрезвычайно важно для штаммов-продуцентов и культур перспективных для использования в биотехнологии [1, 2]. Известно, что длительное хранение микроорганизмов может сказываться на

сохранности биотехнологического потенциал культур [3, 4]. Представители *Candida* играют значительную роль в биотехнологии, поскольку представляют интерес для различных отраслей экономики: пищевой (получения ферментных препаратов) и фармацевтической промышленности, в области охраны окружающей среды и др. [5, 6].

В Узбекистане культуры микроорганизмов, непатогенные для человека и теплокровных животных, хранятся в коллекции культур микроорганизмов Института микробиологии АН РУз. Сохранность культур *Candida* в коллекции обеспечивается хранением под слоем минерального масла или лиофилизацией, а также регулярными пересевами.

Объектами исследования были 42 штамма дрожжей видов *Candida tropicalis*, *Candida mycoderma*, *Candida krusei*, *Candida boidinii*, выделенные из плодово-ягодных растений Центральной Азии и сохраняемые длительное время под слоем минерального масла.

В результате изучения основных культурально-морфологических и физиолого-биохимических характеристик изучаемых культур после пересева на свежие питательные было установлено, что они соответствуют паспортным данным штаммов, т.е. длительное хранение не сказалось негативно на данных штаммах. Изучение галотолерантности коллекционных культур *Candida* показало, что все они способны расти в среде с содержанием NaCl до 5-10%. Кислотообразующая способность так же, как и протеолитическая активность, отмечалась у штаммов *Candida tropicalis* 81, *Candida mycoderma* 85 и *Candida krusei* 99.

Для определения сахаролитических свойств культур дрожжей проводили биохимические тесты на способность ферментировать сахара, а также на уреазную активность. Установлено, что исследуемые культуры в основном сбраживают глюкозу, лактозу, рамнозу, маннозу, арабинозу и ксилозу. Все исследуемые штаммы слабо гидролизуют крахмал, уреазная активность отсутствует. Амилолитическая активность не обнаружена. Для определения лецитиназной активности использовали твердые питательные среда с добавлением яичного желтка. На желточном агаре спустя 3-5 суток культивирова-

ния появлялись слабые светлые зоны вокруг колоний у штаммов *Candida mycoderma* 85 и *Candida sp.* 105.

Далее определяли качественно наличие липолитической способности у дрожжевых культур. В питательных средах в качестве источника углерода использовали оливковое масло. Активные штаммы отбирали при культивировании дрожжей в течение 48 ч при 30°C по величине зон просветления вокруг колонии и при переходе окраски от желтого к розовому цвету. Показано, что липолитической активностью из 42 культур дрожжей обладают 3 штамма *Candida sp.* (106, 126 и 128).

На основании проведенных исследований коллекционных производственно-ценных штаммов *Candida* была установлена высокая стабильность основных биохимических признаков после длительного хранения культур. При этом установлено, что после длительного хранения некоторые штаммы утратили ферментативную активность или активность заметно снизилась.

Список литературы

1. Цуцаева А.А., Ананьина А.Е., Балыбердина Л.М., Степанюк Л.В., Павленко Н.В. Опыт долгосрочного хранения промышленных штаммов микроорганизмов // Микробиология, 2008, том 77, № 5, С. 696-700.
2. Абдулгамидова С.М. Хранение коллекционных дрожжевых культур под вазелиновым маслом // Труды Института микробиологии НАН Азербайджана. Баку: Элм, 2007, т.5, С. 110-117.
3. Morgan, C. A., Herman, N., White, P. A., & Vesey, G. (2006). Preservation of micro-organisms by drying; a review. Journal of microbiological methods, 66(2), 183-193.
4. Lavanya, J., Manjula, S. R., Chitra, A. G., Chaithanya, V., & Sivaramakrishnan, R. (2021). Efficacy of Peptone-glycerol Broth in Long-term Storage of the Bacterial and Yeast Cultures. Journal of Clinical & Diagnostic Research, 15(2).
5. Adamczak, M. (2003). Synthesis, properties, and application of lipase from *Candida antarctica* for high yield monoacylglycerol biosynthesis. Pol. J. Food Nutr. 12/53 (4), 3-8.
6. Yuvadetkun, P., & Boonmee, M. (2016). Ethanol production capability of *Candida shehatae* in mixed sugars and rice straw hydrolysate. Sains Malaysiana, 45(4), 581-587.

ВЭЖХ АНАЛИЗ УТИЛИЗАЦИИ ЛАКТОЗЫ ДРОЖЖАМИ *KLUYVEROMYCES MARXIANUS*, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

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

¹ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

² Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва

Кислото- и термоустойчивые аскомицетовые дрожжи *Kluyveromyces marxianus* широко используются в биотехнологии и пищевой промышленности для производства различных ферментов (инулиназы, пектиназы, β -галактозидазы), а также для производства биоэтанола [1]. Благодаря наличию фермента β -галактозидазы (лактазы) дрожжи *K. marxianus* расщепляют молочный сахар лактозу на глюкозу и галактозу, являясь частым компонентом микрофлоры молока и различных кисломолочных продуктов. Устойчивость к повышенным температурам позволяет *K. marxianus* переносить условия промышленного производства кисломолочных продуктов (пастеризацию), что делает эти дрожжи бо-

лее предпочтительным компонентом промышленных заквасок, чем родственный вид *K. lactis*. Способность *K. marxianus* ферментировать лактозу используется для производства функциональных молочных продуктов со сниженным содержанием лактозы, а также для переработки промышленных сывороточных отходов в полезные целевые вещества, включая биоэтанол, корма для животных и пищевые добавки [2, 3]. В этой связи актуальным является поиск штаммов дрожжей *K. marxianus*, наиболее активно ферментирующих лактозу.

В 2023 году нами было проведено выделение дрожжей из 69 кисломолочных продуктов, произведенных на основе различных видов молока (коровьего, козьего,

кобыльего, овечьего), на территории России, Белоруссии, Киргизии, Казахстана и Турции. Дрожжевая микрофлора изученных молочных продуктов была представлена как усваивающими лактозу (*Kluyveromyces*, *Debaryomyces* и *Candida*), так и негативными по этому признаку дрожжами *Saccharomyces*, *Kazachstania*, *Pichia*, *Yarrowia*, *Galactomyces*, *Clavispora*, *Saprochaete*, *Candida* и *Rhodotorula*). Дрожжи *K. marxianus* доминировали в большинстве изученных продуктов, включая традиционные и национальные кисломолочные напитки, изготовленные из коровьего и кобыльего молока. В молочных продуктах, изготовленных из козьего и овечьего молока эти дрожжи не были обнаружены.

Целью настоящей работы является изучение методом ВЭЖХ анализа динамики утилизации лактозы дрожжами *K. marxianus* выделенными нами из различных молочных продуктов, реализуемых в России. Для анализа эффективности утилизации лактозы были отобраны 19 штаммов *K. marxianus* из традиционных продуктов (кефир, ряженка), национальных кисломолочных напитков (айран, тан, чалап, мацони), а также продуктов из кобыльего молока (кумыс, саумал – сухое кобылье молоко).

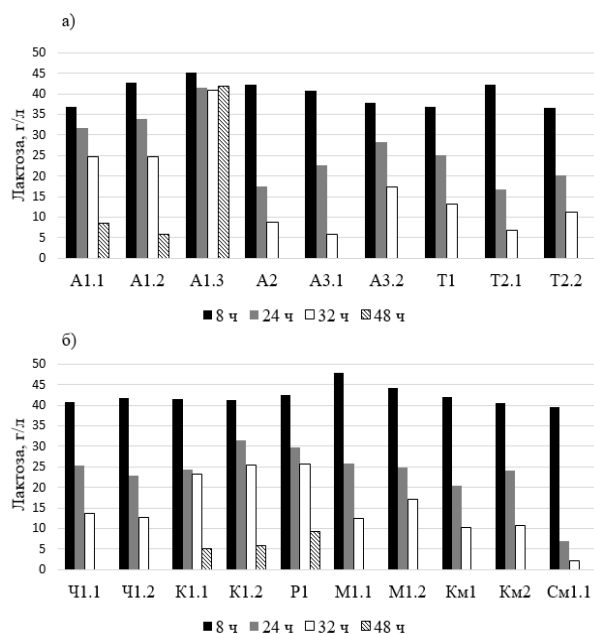


Рис. 1. ВЭЖХ анализ сбраживания 5%-ного раствора лактозы дрожжами *K. marxianus*, выделенными из различных традиционных и национальных кисломолочных продуктов: а) А1.1, А1.2, А1.3 – айран, Кабардино-Балкария; А2 – айран, Калужская обл.; А3.1, А3.2 – айран, Тульская обл.; Т1 – тан, Киргизия; Т2.1, Т2.2 – тан, Свердловская обл.;

б) Ч1.1, Ч1.2 – чалап, Киргизия; К1.1, К1.2 – кефир, Кабардино-Балкария; Р1 – ряженка, Кабардино-Балкария; М1.1, М1.2 – мацони, Тверская обл.; Км1 – кумыс, Марий Эл; Км2 – кумыс, Башкирия; См1.1 – саумал, Казахстан.

Для высокоэффективной жидкостной хроматографии изученные штаммы дрожжей *K. marxianus* выращивали в жидкой питательной среде, содержащей 5% лактозу, что соответствует среднему содержанию лактозы в коровьем молоке: 4,4–4,7% [4]. Пробы отбирали через 8, 24, 32, 48 часов. Центрифугировали для осаждения клеток дрожжей и супернатант переносили в стерильные пробирки эппендорф. Анализ проводили на жидкостном хроматографе HPLC-система Waters Alliance E2695 (США) с колонками YMC-Pack Polyamine II, 12 нм, 5 мкм, 250 × 4.6 мм. На рис. 1 представлены

результаты проведенного ВЭЖХ анализа. Различная динамика сбраживания лактозы отмечена у штаммов, выделенных из различных кисломолочных продуктов, а также между штаммами, выделенные из одного и того же продукта.

На основании скорости утилизации лактозы на второе сутки изученные штаммы разделились на две группы. В первую группу вошли 13 штаммов, которые уже за первые сутки утилизировали около 50% лактозы от исходного содержания, а через 48 часов полностью гидролизировали всю лактозу в среде. Остаточное содержание лактозы через 32 ч у большинства штаммов этой группы составило от 7 до 14 г/л, что соответствует 14–28% от исходного содержания лактозы. Наиболее активно сбраживали лактозу штаммы См1.1, А3.1 и Т2.1: через 32 ч остаточное содержание лактозы в среде составляло менее 7 г/л (рис. 1). Эти штаммы выделены, соответственно, из сухого кобыльего молока (Казахстан), айрана (Тульская обл.) и тана (Свердловская обл.). Высокой скоростью утилизации лактозы также характеризовались выделенные из кумыса (кобылье молоко) штаммы Км1 (Марий Эл) и Км2 (Башкирия). Наименьшая ферментационная активность обнаружена у штаммов А3.2 и М1.2, выделенных из мацони и айрана, произведенных в Тульской области ((рис. 1а и б). Следует отметить, что штаммы М1.1 и М1.2, выделенные из одного кисломолочного продукта (мацони, Тульская обл.) отличались по скорости гидролиза лактозы (рис. 1б).

Шесть штаммов второй группы, выделенные из различных кисломолочных продуктов (айран, кефир, ряженка) даже через 48 часов полностью не утилизировали 5%-ную лактозу. Штаммы этой группы существенно различались по скорости гидролиза лактозы в первые сутки. Например, штамм К1.1, выделенный из кефира (Кабардино-Балкария), гидролизировал 50% лактозы уже в первые сутки, а через 48 часов содержание остаточной лактозы составило 5 г/л (рис. 1б). С другой стороны, штаммы А1.1, А1.2, К1.2 и Р1 утилизировали в первые сутки около 35% лактозы, а штамм А1.3 (айран, Кабардино-Балкария) через 48 ч гидролизировал только 18 от исходного содержания лактозы.

Наиболее вариabельными по скорости утилизации лактозы оказались выделенные из айрана штаммы *K. marxianus* (рис. 1а). Например, у штаммов А1.1 и А1.2 (Кабардино-Балкария) остаточное содержание лактозы в среде через 48 часов составило, соответственно, 9 и 6 г/л, тогда как штамм А1.3 (Калужская обл.) практически совсем не утилизировал лактозу.

Таким образом, эффективность утилизации лактозы дрожжами *K. marxianus*, в значительной степени зависела от вида кисломолочного продукта, типа молока, места производства и особенностей штаммов.

Исследование проведено в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

Список литературы

1. Karim A., Gerliani N., Aider M. *Kluyveromyces marxianus*: An emerging yeast cell factory for applications in food and biotechnology .International Journal of Food Microbiology. – 2020. – Т. 333. – С. 108818.
2. Catanzaro R., Sciuto M., Marotta F. Lactose intolerance: An update on its pathogenesis, diagnosis, and treatment .Nutrition Research. – 2021. – Т. 89. – С. 23-34.
3. Pendón M. D., Madeira J. V., Romanin D. E., Rumbo M., Gombert A. K., Garrote, G. L. A biorefinery concept for the production

of fuel ethanol, probiotic yeast, and whey protein from a by-product of the cheese industry .Applied Microbiology and Biotechnology. – 2021. – Т. 105. – С. 3859-3871.

4. Крашенинникова И. В., Лефлер Т. Ф. Влияние генотипа на химический состав молока .Международный научно-исследовательский журнал. – 2022. – №. 5-2 (119). – С. 62-66.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ *CANDIDA ALBICANS* В ТЕЧЕНИЕ СУТОК

Сивкова Д.С., Николенко М.В., Шалатонова Е.Е., Барышникова Н.В., Еноктаева О.В.
Тюменский ГМУ Минздрава России

Актуальность. *Candida albicans* (*C. albicans*) — распространенный дрожжевой грибок микробиоты человека. Несмотря на то, что у здоровых людей, как правило, комменсал безвреден, некоторые факторы, такие как нарушение целостности кожных покровов и слизистых оболочек, смещение pH в кислую сторону, отягощенный коморбидный фон, нерациональное и частое применение кортикостероидов, цитостатиков, антибиотиков широкого спектра действия, иммунодепрессантов, могут привести к его чрезмерному росту, инвазии в эпителий, дальнейшей гематогенной диссеминации и развитию ряда осложнений в организме хозяина, от локализованных поверхностных инфекций до системного диссеминированного кандидоза. Одним из факторов патогенности *Candida sp.* является продукция токсина-гемолизина, способствующего развитию интоксикации и сенсибилизации [1,2].

Патогенные свойства *C. albicans* в значительной степени зависят от его перехода из дрожжевой формы в гифальную. Филаментация - процесс железозависимый, так как металл необходим для устойчивого развития гиф [3]. В кислой среде (pH 6,5–7,5) гифы гриба способны продуцировать гемолитические факторы, лизирующие мембрану эритроцитов и поглощающие железо гема и ферритин путем эндоцитоза [1,4]. Помимо этого, ионы железа представляют собой важные кофакторы для активности металлопротеаз, которые часто выступают в качестве рецепторов для порообразующих токсинов гриба [5].

C. albicans продуцирует гифа-ассоциированный секретируемый пептидный токсин кандидализин, полученный из гена, кодирующего Ece1 (эндотелио-превращающий фермент 1). Участие Ece1 в лизисе эритроцитов подтверждается тем, что его экспрессия индуцируется в присутствии гемоглобина.

Механизм действия кандидализина связывают с влиянием на пуриnergические рецепторы ионотропного типа [5]. Повреждение клеток, их некроз и апоптоз приводят к высвобождению АТФ из внутриклеточных депо. Внеклеточная АТФ активирует мембраносвязанные пуриnergические рецепторы P2X. Это приводит к изменению конформации рецептора, открытию ионных каналов, через которые свободно перемещаются катионы. Типичным последствием является Na-опосредованная деполаризация плазматической мембраны [6].

Цель исследования. Выявить гемолитическую активность *C. albicans* в течение суток.

Материалы и методы. Гемолитическая активность изучалась на культурах *C. albicans* 24433 ATCC и *C. albicans* 710, выделенной из женского репродуктивного тракта. Ритмометрические показатели исследовались в течение суток с четырехчасовым интервалом в зимнее время года в IV фазу Луны. Статистический анализ полученных показателей проводился в Excel 2016.

Результаты исследования. У изучаемых культур выявлена суточная динамика гемолитической активности с одинаковыми характерными ультрадианными ритмами ($p \geq 0,05$). Биологическая активность штамма *C. albicans* 24433 ATCC и *C. albicans* 710 достигала максимальных значений в 4:00 и 20:00. Минимальные значения изучаемого показателя у обеих культур наблюдались в 8:00.

Вывод. Изучение ритмометрических показателей гемолитической активности штамма *C. albicans* позволило выяснить, что ведущими являются ультрадианные ритмы, максимальная активность которых проявлялась в ранние утренние часы и вечернее время суток, минимальная - в 8:00.

Список литературы.

1. Кольцов И.П. и соавт. Микробиологические свойства условно-патогенных сахаромикетов рода *Candida* при хронических, рецидивирующих инфекционно-воспалительных процессах (обзор литературы) - ТМЖ, 2023. №1. - 91 с.
2. Ponde NO, Lortal L, Ramage G, Naglik JR, Richardson JP. *Candida albicans* biofilms and polymicrobial interactions. Crit Rev Microbiol. 2021;47(1):91-111. doi: 10.1080/1040841X.2020.1843400. PMID: 33482069.
3. Junier A, Weeks A, Alcaraz Y, Kumamoto CA. Bypass of Dfi1 Regulation of *Candida albicans* Invasive Filamentation by Iron Limitation. mSphere. 2022;7(1):e0077921. doi: 10.1128/mSphere.00779-21. PMID: 35107339.
4. Багирова Н.С. и соавт. Кандидемия у онкологических больных: фенотипические и молекулярно-генетические характеристики резистентности к противогрибковым лекарственным средствам, гены факторов патогенности *Candida spp.* - Сибирский онкологический журнал, 2022. №3.
5. Mogavero S, Höfs S, Lauer AN, et al. Candidalysin Is the Hemolytic Factor of *Candida albicans*. Toxins (Basel). 2022;14(12):874. doi: 10.3390/toxins14120874. PMID: 36548771.
6. Maynard JP, Sfanas KS. P2 purinergic receptor dysregulation in urologic disease. Purinergic Signal. 2022;18(3):267-287. doi: 10.1007/s11302-022-09875-1. PMID: 35687210.

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Current Mycology in Russia

Том 10

Выпуск 2.

**Экология, биоразнообразие
и охрана грибов**

Глава 3.

**Биоразнообразие и охрана
грибов России и Евразии**

doi: 10.14427/cmr.2024.x.03

Глава 4.

Экология грибов

doi: 10.14427/cmr.2024.x.04

Volume 10

Issue 2.

**Fungal ecology, biodiversity
and preservation**

Chapter 3.

**Biodiversity and preservation
of fungi in Russia and Eurasia**

doi: 10.14427/cmr.2024.x.03

Chapter 4.

Fungal ecology

doi: 10.14427/cmr.2024.x.04

Содержание выпуска 2

Глава 3. Биоразнообразие и охрана грибов России и Евразии

ДЕНДРОФИЛЬНЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ПРИПЯТСКИЙ» Беломесяцева Д.Б., Звягинцев В.Б., Шабашова Т.Г.	70
К ИССЛЕДОВАНИЮ БАЗИДИОМИЦЕТОВ ПОЛИГОНА «КАРБОН-ПОВОЛЖЬЕ» И ЕГО ОКРЕСТНОСТЕЙ Бервинова А. А., Потапов К. О.	71
НАЧАЛО ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА <i>SARCOSCYPHACEAE</i> НА ТЕРРИТОРИИ ПРИМОРСКОГО КРАЯ Бочкарева Ю.В., Богачева А.В.	73
«СКРЫТОЕ» РАЗНООБРАЗИЕ СТАНОВИТСЯ ВИДИМЫМ: УСПЕХИ ПРОЕКТА ПО ОЦИФРОВКЕ ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ О РАСПРОСТРАНЕНИИ <i>AGARICOMYCOTINA</i> В РОССИИ Большаков С. Ю., Волобуев С. В., Калинина Л. Б.	74
К ВОПРОСУ О ЛЕСОТИПОЛОГИЧЕСКОЙ ПРИУРОЧЕННОСТИ <i>INONOTUS OBLIQUUS</i> (АСН. EX PERS.) PILÁT В УСЛОВИЯХ БЕЛАРУСИ МИКОБИОТА КЕДРА КОРЕЙСКОГО (<i>PINUS KORAIENSIS</i>) Борзова А.С.	77
РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ <i>HERICUM CORALLOIDES</i> (SCOP.) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СУБСТРАТОВ В УСЛОВИЯХ НАЦИО- НАЛЬНОГО ПАРКА «ЛОСИНЫЙ ОСТРОВ» Брыков Г.М., Зубкова В.М., Горбунова В.А.	79
<i>PORODAEDALEA YAMANOI</i> (HYMENOSCHAEACEAE, BASIDIOMYCOTA) НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ РОССИИ Бухарова Н.В.	81
ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ ЛИСТЬЕВ ДЕРЕВЬЕВ И КУСТАРНИКОВ В БОТАНИЧЕСКОМ САДУ ЮЖНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА (Г. РОСТОВ-НА-ДОНУ): ИТОГИ МНОГОЛЕТНЕГО ИЗУЧЕНИЯ РАЗНООБРАЗИЯ Булгаков Т.С.	81
СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ ПИКНИДИАЛЬНЫХ СЕПТОРИОПОДОБНЫХ МИКРОМИЦЕТОВ В БЕЛАРУСИ Федюшко И.А.	83
БАРКОДИНГ КОЛЕКЦИИ ФУНГАРИЯ ЮГОРСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА Филиппова, Н.В.	85
УТОЧНЕННЫЕ СВЕДЕНИЯ О МИКОБИОТЕ ХВОИ И ПОБЕГОВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ Головченко Л.А., Пантелеев С.В., Дишук Н.Г., Константинов А.В., Падутов А.В., Кобзарь-Шпиганович А.В.	86
ПЕРВОЕ НАХОЖДЕНИЕ НА ЛИМОНИТЕ <i>STEREOCAULON VESUVIANUM</i> (SM.) АСН. В БЕЛАРУСИ Голубков В.В.	88
НОВЫЙ ВИД <i>LACTOCOLLYBIA</i> SP. В РОССИИ ИЗ ТЕПЛИЦ ЦСБС СО РАН Горбунова И. А., Филиппова Н. В.	89
РАЗНООБРАЗИЕ СЕМЕЙСТВА AGARICACEAE ВЬЕТНАМА В СВЕТЕ СОВРЕМЕННОЙ СИСТЕМЫ BASIDIOMYCOTA Иванова Д.Д.	90
К ВОПРОСУ О ПРАКТИЧЕСКИХ МЕРАХ ОХРАНЫ АГАРИКОМИЦЕТОВ РАЗЛИЧНЫХ ТРОФИЧЕСКИХ ГРУПП НА ПРИ- МЕРЕ ПЕНЗЕНСКОЙ ОБЛАСТИ Иванов А.И.	91
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ ПО МОНИТРИНГУ ОХРАНЯЕМЫХ ГРИБОВ РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ Ивойлов А.В.	93
МИКОБИОТА СФАГНОВЫХ БОЛОТ НА ПРИМЕРЕ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН Качмашева О. А., Потапов К.О.	95
НОВЫЕ НАХОДКИ ОХРАНЯЕМЫХ ВИДОВ ГРИБОВ В ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ Капитонов В.И.	96
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МИКОБИОТЫ АФИЛЛОФОРОИДНЫХ ГРИБОВ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ АБХАЗИИ Хачева С.И.	97
РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОМИЦЕТОВ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ БУГРИСТЫХ БОЛОТ В ГОРНЫХ ЛАНДШАФТАХ ПРИПОЛЯРНОГО УРАЛА Ковалева В.А., Виноградова Ю.А., Лаптева Е.М., Денева С.В., Перминова Е.М.	99
МИКОБИОТА ВЫСОКОГОРНЫХ ЛЕСОВ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА ИЗ <i>BETULA</i> L. И <i>PINUS HAMATA</i> D. SOSN. Крапивина Е.А., Козьминов С.Г.	100
ГРИБЫ-МАКРОМИЦЕТЫ В ТРЕТЬЕМ ИЗДАНИИ КРАСНОЙ КНИГИ ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ Курочкин С.А., Медведев А.Г.	102
ПЕРВОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ <i>DIPLODIA SAPINEA</i> (FR.) P. KARST. В СРЕДНЕЙ СИБИРИ Литовка Ю.А., Познухова С.С., Павлов И.Н.	103
МИКСОМИЦЕТЫ КСИЛОБИОНТНОГО СУБСТРАТНОГО КОМПЛЕКСА В ЗАПОВЕДНИКЕ КОН ЧУ РАНГ, ВЬЕТНАМ Луптакова А.Д., Новожилов Ю.К.	105
НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О МИКСОМИЦЕТАХ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ПРИПЯТСКИЙ» (РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ) Мороз Е.Л.	105
НОВЫЕ НАХОДКИ КРАСНОКНИЖНЫХ ВИДОВ ГРИБОВ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «МАРИЙ ЧОДРА» Нагуманов Ш.З.	106

ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ ИТОГИ ИССЛЕДОВАНИЙ МИКОБИОТЫ ВЬЕТНАМА
В БОТАНИЧЕСКОМ ИНСТИТУТЕ РАН
Попов Е.С., Новожилов Ю.К., Псурцева Н.В., Журбенко М.П., Кияшко А.А.,
Морозова О.В., Малышева В.Ф., Малышева Е.Ф., Сенник С.В., Дудка В.А.,
Иванова Д.Д., Калинина Л.Б., Луптакова А.Д., Волобуев С.В. 107

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ БАЗ ДАННЫХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ
«FUNGI OF TATARSTAN»
Потапов К.О. 109

ФИТОТРОФНАЯ ОБЛИГАТНО-ПАРАЗИТНАЯ МИКОБИОТА
ПРОБНОЙ ПЛОЩАДИ ЛАНДШАФТНО-РЕКРЕАЦИОННОГО ПАРКА
РЕГИОНАЛЬНОГО ЗНАЧЕНИЯ «НАУЧНЫЙ», КРЫМ
Просянкина И.Б. 110

СОХРАНЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ МАКРОМИЦЕТОВ В КОЛЛЕКЦИИ КУЛЬТУР БАЗИДИОМИЦЕТОВ
БОТАНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА ИМ. В.Л. КОМАРОВА РАН:
ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ
Псурцева Н.В., Кияшко А.А., Сенник С.В., Майорова И.В., Шахова Н.В., Белова Н.В. 111

ИЗУЧЕНИЕ РОДА *LACHNUM* RETZ. НА РОССИЙСКОМ ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ
Романцов С.А., Богачева А.В. 113

РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ АГАРИКОИДНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ,
ОТМЕЧЕННЫХ НА ДРЕВЕСИНЕ В ОРЕНБУРГСКОЙ ОБЛАСТИ
Сафонов М. А. 114

ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ О МИКСОМИЦЕТАХ (МУХОМУСЕТЕС) КУПАНСКОГО ЛЕСНИЧЕСТВА (НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПАРК
«ПЛЕЩЕЕВО ОЗЕРО», ЯРОСЛАВСКАЯ ОБЛАСТЬ)
Сакулин С.В., Гмошинский В.И., Кондакова Г.В. 116

СУИЛЛЮСОВЫЕ ГРИБЫ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО СЕВЕРА
(НА ПРИМЕРЕ МАГАДАНСКОЙ ОБЛАСТИ)
Сазанова Н. А., Звягина Е. А. 118

МИКРОМИЦЕТЫ НА ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЯХ
Ширнина Л.В. 120

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ДИНАМИКИ РАЗНООБРАЗИЯ
ВЫСОКОШИРОТНОЙ МИКОБИОТЫ РОССИИ
Змитрович И.В., Ширяев А.Г. 121

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О *THYRONECTRIA CUCURBITULA*,
МАЛОИЗУЧЕННОМ МИКРОМИЦЕТЕ НА СОСНЕ
В МОСКОВСКОЙ И ЯРОСЛАВСКОЙ ОБЛАСТЯХ
Шишкина А.А., Карпун Н.Н. 122

ВИРТУАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЧЕСКАЯ КОЛЛЕКЦИЯ.
НОВЫЙ СОВМЕСТНЫЙ ПРОЕКТ МЕЖВЕДОМСТВЕННОГО
СУПЕРКОМПЬЮТЕРНОГО ЦЕНТРА РАН
И ГОСУДАРСТВЕННОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО МУЗЕЯ ИМ. К.А. ТИМИРЯЗЕВА
Соболевская И.Н., Зубарева О.А. 123

ФОРМИРОВАНИЕ МОНИТОРИНГОВОГО СПИСКА ВИДОВ ГРИБОВ РОССИИ: ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП.
Светашева Т.Ю., Агеев Д.В., Бухарова Н.В., Волобуев С.В., Воронина Е.Ю.,
Горбунова И.А., Ерофеева Е.А., Звягина Е.А., Иванов А.И., Калинина Л.Б.,
Кияшко А.А., Коткова В.М., Кочунова Н.А., Морозова О.В., Паламарчук М.А.,
Переведенцева Л.Г., Попов Е.С., Потапов К.О., Ребриев Ю.А.,
Сазанова Н.А., Саркина И.С., Филиппова Н.В., Ширяев А.Г., Ширяева О.С. 124

О НАХОДКЕ ГРИФОЛЫ КУРЧАВОЙ В НИЖНЕМ НОВГОРОДЕ
Темнухин В.Б. 126

АФИЛЛОФОРОИДНЫЕ ГРИБЫ
НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «САМУРСКИЙ» (РЕСПУБЛИКА ДАГЕСТАН, РОССИЯ):
НОВЫЕ ДАННЫЕ ПРОДОЛЖАЮЩИХСЯ ИССЛЕДОВАНИЙ
Волобуев С.В. 127

Глава 4. Экология грибов

ИЗУЧЕНИЕ МИКОБИОТЫ РЕКОНСТРУИРУЕМОГО ЗДАНИЯ
Алейников С.А., Шабашова Т.Г., Кориняк С.И., Беломесяцева Д.Б. 129

РОЛЬ ПИГМЕНТА МЕЛАНИНА В АДАПТАЦИИ МИКРОМИЦЕТОВ
К РАДИАЦИОННОЙ СРЕДЕ УРБООКОСИСТЕМЫ
Алиев И.А. 131

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ
К ДИАГНОСТИКЕ ГРИБОВ РОДА *ASPERGILLUS* – АГЕНТОВ БИОПОВРЕЖДЕНИЙ
Арашкова А.А., Летвинова В.С. 133

АНАЛИЗ БИОПЛЕНКИ МИКРОМИЦЕТОВ НА ПОВЕРХНОСТИ СТАЛИ
ПРИ ОЦЕНКЕ БИОКОРРОЗИОННОЙ АГРЕССИВНОСТИ
Чеснокова М. Г., Шалай В.В., Миронов А. Ю. 134

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ МИКОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ОЦЕНКЕ БИОКОРРОЗИОННОЙ АГРЕССИВНОСТИ
ПОЧВОГРУНТОВ НЕФТЕПРОВОДА
Чеснокова М. Г., Шалай В.В., Миронов А. Ю. 135

СПОСОБЫ ЗАЩИТЫ МАТЕРИАЛОВ ОТ РАЗВИТИЯ ГРИБОВ
Дешевая Е.А., Тверской В.А. 137

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА МИКОБИОТЫ ВОЗДУХА НЕКОТОРЫХ АПТЕК Г. ЕРЕВАН
Элоян И.М., Матевосян Р.Э., Маркарян Л.В., Нанагюлян С.Г. 138

ОЦЕНКА КСИЛОТРОФНЫХ МАКРОМИЦЕТОВ,
РАСПРОСТРАНЕННЫХ В АЗЕРБАЙДЖАНЕ, ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
Гасанова В.Я. 140

ТЕРМОФИЛЬНЫЕ И ТЕРМОТОЛЕРАНТНЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ ЗА ПОЛЯРНЫМ КРУГОМ	
Ильющин В.А.....	142
ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГРИБОВ – КОНТАМИНАНТОВ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ	
Кантор К.В., Кантерова А.В., Данилова Д.Ю., Сидоренко А.В.....	143
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ	
МИКОКОМПЛЕКСОВ ВОДЫ ПРИБРЕЖНЫХ	
И ОТКРЫТЫХ УЧАСТКОВ ЧЁРНОГО МОРЕЯ	
Копытина Н.И., Бочарова Е.А.	144
ГРИБЫ КАК АКТИВНЫЕ АГЕНТЫ БИОПОВРЕЖДЕНИЙ ДРЕВЕСИНЫ	
ДЕРЕВЯННЫХ КОНСТРУКЦИЙ В ПОЧВЕННО-КЛИМАТИЧЕСКИХ	
УСЛОВИЯХ ЮЖНО-ТАЕЖНОЙ ПРИРОДНОЙ ЗОНЫ	
Ларина Г.Е., Серая Л.Г.	146
СПОСОБНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КНИГОХРАНИЛИЩ,	
РАСТИ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ	
Мамаева Н.Ю., Великова Т.Д., Дегтярева А.В.....	148
ПОРЯДОК ERYSIPTHALES, КАК ФИТОПАТОГЕНЫ	
РАСТИТЕЛЬНОСТИ В ПАРКАХ Г. ВОЛГОГРАДА	
Михалев В.М.	150
МИКОЛОГИЧЕСКИЕ КОНСОРТНЫЕ АССОЦИАЦИИ ОСНОВНЫХ ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД	
КАК ФАКТОР ПОДДЕРЖАНИЯ СУКЦЕССИОННЫХ ТРАНСФОРМАЦИЙ ФИТОЦЕНОЗОВ	
Некляев С.Э., Ларина Г.Е., Серая Л.Г.	152
МИКОБИОТА ПОЧВ И КРИОКОНИТОВ ЗЕМЛИ ФРАНЦА-ИОСИФА И ПОЛЯРНОГО УРАЛА	
Никитин Д.А., Яковлева С.А., Лысак Л.В., Мергелов Н.С.,	
Долгих А.В., Зазовская Э.П., Добрянский А.С., Горячкин С.В.	153
ВЛИЯНИЕ СОЛОМЫ НА КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МИКОБИОТЫ	
ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ И РИЗОСФЕРЫ В ПОЛУВЕКОВОМ ОПЫТЕ	
С РАЗНЫМИ СИСТЕМАМИ УДОБРЕНИЙ	
Никитин Д.А., Семенов М.В., Ксенофонтова Н.А., Тхакахова А.К. , Русакова И.В., Лукин С.М.	155
ФОРМИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ	
ПРИ ОТСТУПЛЕНИИ ЦЕЙСКОГО ЛЕДНИКА	
Николаев Н.С., Кирцидели И.Ю., Ильющин В.А., Власов Д.Ю.	157
ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ	
ДРЕВЕСНЫХ СУБСТРАТОВ АРКТИЧЕСКОГО РЕГИОНА	
Панькова И.Г. , Кирицели И.Ю. , Ильющин В.А., Власов Д.Ю. , Гаврило М.В.	158
<i>DISTYOSTELIUM DISCOIDEUM</i> : ПЕРВОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ	
И ИССЛЕДОВАНИЕ В СИБИРИ В ПОЧВАХ РАЗЛИЧНОГО ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ	
Павлов И.Н., Арканова М.Е., Литовка Ю.А.	160
ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ГРИБАМИ	
ПАМЯТНИКОВ ИСКУССТВА И КУЛЬТУРЫ	
Ребрикова Н.Л.	161
РАЗВИТИЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ В ГИПОМАГНИТНЫХ УСЛОВИЯХ,	
СВОЙСТВЕННЫХ ЛУНЕ И ОКОЛОЛУННОМУ ПРОСТРАНСТВУ	
Родимин В.Д., Харин С.А., Поддубко С.В., Кураков А.В., Кулачкова С.А., ...	163
ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РАЗВИТИЕ ДРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ	
В УСЛОВИЯХ МОСКВЫ	
Смирнова О. Г., Смирнов А. Н.	165
ДОПОЛНЕНИЕ К ПЕРЕЧНЮ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ	
СВЕТЛОГОРСКОГО РАЙОНА ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ БЕЛАРУСИ	
Свирид А.П., Храмцов А.К.	167
ПОЧВЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ – АКТИВАТОРЫ ПРОЦЕССА ДЕГРАДАЦИИ ПОЛИМЕРОВ	
Тертышная Ю.В., Леонова И.Б.....	169
<i>MASROTYPGULA RHACORRHIZA</i> В БИОЛОГИЧЕСКОЙ БОРЬБЕ	
ПРОТИВ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СНЕЖНОЙ ПЛЕСЕНИ МНОГОЛЕТНИХ ТРАВ:	
<i>MICRODOCHMIUM NIVALE</i> И <i>TYRHULA ISHIKARIENSIS</i>	
Ткаченко О.Б., Тазина С.В., Лангаева Н.Н., Демидова А.П.	171
ГРИБЫ РОДА <i>TRICHODERMA/HYPOCREA</i> – АГЕНТЫ ПЛЕСНЕВОГО ПОРАЖЕНИЯ	
ПРИ ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ	
Тригубович А.М. Гончарова И.А.....	172
СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ ГРИБОВ ФИЛЛОПЛАНЫ	
Царелунга А.А.....	174
БИОДЕГРАДАЦИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ	
АСКОМИЦЕТАМИ <i>MICRODOCHMIUM NIVALE</i> (XYLARIALES)	
Ветчинкина Е.П.	175
МИКОБИОТА ПЛЕЙСТОФИТА <i>HYDROCHARIS MORSUS-RANAE</i> L.:	
ГРИБЫ ФИЛЛОПЛАН, ЭНДОФИТЫ, ДЕСТРУКТОРЫ	
Воронин Л.В.	178
ГИДРОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ, ПРОДУЦИРУЕМЫЕ МИКРОМИЦЕТАМИ,	
ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ АНАТОМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ	
Зачиняев Я.В., Зачиняева А.В., Гладин Д.П.....	178
МИЦЕЛИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ-АССОЦИАНТЫ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ	
ИЗ ГЛУБОКОВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ БЕРИНГОВА МОРЕЯ (РОССИЯ)	
Зверева Л.В., Борзых О.Г.	179

Глава 3

Биоразнообразие и охрана
грибов России и Евразии

10.14427/cmr.2024.x.03

ДЕНДРОФИЛЬНЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ПРИПЯТСКИЙ»

Беломесяцева Д.Б.¹, Звягинцев В.Б.², Шабашова Т.Г.¹¹Институт экспериментальной ботаники, Минск²Белорусский государственный технологический университет, Минск

В 2007-2012 гг. сотрудниками Института экспериментальной ботаники были проведены масштабные исследования грибов различных таксономических групп в составе микобиоты Национального парка «Припятский», завершившиеся опубликованием монографии [1]. При гербаризации дендрофильных микромицетов основное внимание уделялось тем группам микроскопических грибов, которые до этого на территории парка не изучались, а именно пирено- и дискомицетам, а также дейтеромицетам. Ранее, в конце 1980 - начале 1990 гг. сотрудником кафедры ботаники Белорусского государственного университета И.С. Гириловичем изучались пероноспоровые, мучнисторосяные и ржавчинные грибы Национального парка [2].

Современные исследования (2021-2023 гг.) позволили дополнить чек-лист микромицетов и выявить ряд инвазивных и потенциально инвазивных видов, включая вид входящий в перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза.

Объекты (материалы) и методы исследования.

Объектами исследования являлись инвазивные микромицеты, развивающиеся на древесных породах. Сбор гербарных образцов проводился в 2021-2023 г. в Гомельской области (в т.ч. на территории Национального парка «Припятский») сотрудниками Института экспериментальной ботаники и Белорусского государственного технологического университета. Материал гербаризировался по стандартным методикам [3]. Диагностика проводилась по анатомо-морфологическим и культуральным признакам методом световой микроскопии. Молекулярно-генетическую идентификацию патогенов проводили в Научной отраслевой лаборатории защиты леса (НОЛЗЛ) БГТУ, в случаях, когда симптоматическая картина и другие методы не позволяли однозначно определить вид патогена. Использовали следующую методологическую последовательность: выделение ДНК, классический ПЦР, секвенирование по Сенгеру, обработка нуклеотидных последовательностей в программе BioEdit и базе данных NCBI. Для выделения ДНК из древесины использовали набор DNEasy Plant Mini Kit (Qiagen). С выделенными образцами ДНК проводили классическую ПЦР. Для амплификации ДНК использовали праймеры PA-F/PA-R (Ioos, 2005), которые амплифицируют продукт от 450 п.о. Смесь реактивов для постановки одной реакции объемом 25 мкл содержала: 16 мкл свободной от РНК и ДНК воды, 5 мкл 5X ПЦР буфера MasDDTaqMIX – 2025 (ООО «Диалат Лтд», Москва), по 1 мкл каждого праймера (10мкМ) и 2 мкл целевой ДНК. Температурно-временные параметры ам-

плификации для праймеров ITS 4/ITS 5 включали: предденатурацию 95 °С – 3 мин., далее 40 циклов, состоящих из денатурации 95 °С – 30 сек., отжига праймеров 58 °С – 30 сек., элонгации 72 °С – 60 сек.; финальный досинтез 72 °С – 10 мин.; хранение при +40С. Результаты амплификации регистрировали после проведения электрофореза в 1,5 % агарозном геле, окрашенном бромистым этидием в гель-документирующей системе Gel Doc XR+ (Bio-Rad). Размер продукта ПЦР измеряли, используя маркеры молекулярного веса GeneRuler™ 100+ п.н. и Fast Ruler™ (Fermentas). ПЦР продукты, предназначенные для секвенирования, очищали с помощью коммерческого набора QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen). Реакцию секвенирования проводили с применением реагентов BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) согласно инструкции производителя, с последующим разделением фрагментов на генетическом анализаторе 3500 Applied Biosystems [4-6].

Результаты исследований и их обсуждение.

В монографии 2012 года на древесных породах НП «Припятский» указывалось 92 вида микромицетов, все приведенные виды таксономически относились к аскомицетам в анаморфной и телеоморфной стадии. Среди них имелись инвазивные дендропатогены *Erysiphe alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam. и *Ophiostoma complex*. Крупнейшим белорусским специалистом по мучнисторосяным и ржавчинным грибам, И.С. Гириловичем, в статье «К изучению микобиоты национального парка «Припятский»» (1999) упоминаются такие инвайдеры, как *Coleosporium tussilaginis* (Pers.) Lév., *Erysiphe alphitoides*, *Melampsorium betulinum* (Pers.) Kleb. [2].

Проведенные в 2021-2023 гг. исследования позволили дополнить список дендрофильных микромицетов 25 новыми видами, 8 из которых относятся к числу инвазивных: *Cyclaneusma minus* (Butin) DiCosmo, Peredo & Minter, *Dothistroma septosporum* (Dorog.) M. Morelet, *Erysiphe flexuosa* (Peck) U. Braun & S. Takam., *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter, *Hymenoscyphus fraxineus* (T. Kowalski) Baral, Queloz & Hosoya, *Passalora juniperina* (Georgescu & Badea) H. Solheim, *Phyllosticta paviae* Desm., *Phytophthora alni* Brasier & S.A. Kirk.

Таким образом всего идентифицировано 117 видов, большинство из которых относятся к аскомицетам, из них 62 вида представляют собой телеоморфы, и 53 вида относятся к грибам в анаморфной стадии. По одному виду относится к базидиальным ржавчинным грибам и к оомицетам. Видовая насыщенность родов – 1-2 вида. Преобладают в составе микобиоты аскомицеты в теле-

оморфной (62) и анаморфной стадии (53). Аскомицеты в телеоморфной стадии представлены пятью классами: Sordariomycetes (21), Leotiomycetes (20), Orbiliomycetes (2) и Dothideomycetes (18), Arthoniomycetes (1).

Повсеместно распространенными видами аскомицетов на территории НП «Припятский» являются: *Erysiphe alphitoides*, *Rhytisma acerinum*, *Lophodermium pinastri*, *Chaetomium globosum*, *Pleospora herbarum* (5 видов). Часто встречающимися видами: *Coccomyces coronatus*, *Diatrype stigma*, *Dothiora sorbi*, *Lophium mytilinum*, *Nectria cinnabarina*, *Mytilinidion acicola* (6 видов). Остальные аскомицеты отмечены единично.

Анаморфные грибы представлены значительным числом повсеместно распространенных космополитных видов: *Acremonium butyri*, *Acremonium charticola*, *Actinocladium rhodosporum*, *Alternaria alternata*, *Arthrobotrys arthrobotryoides*, *Aureobasidium pullulans*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium oxysporum*, *Torula herbarum*, *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma polysporum* (13). Часто встречающимися видами являются *Epicoccum nigrum*, *Fusidium griseum*, *Gloeosporium quercinum*, *Humicola grisea*, *Phoma pinastri*, *Phragmotrichum chaillietii*, *Sphaeridium candidum*, *Symptodiella acicola*, *Septoria quercina*, *Septoria sorbi* (10). Остальные анаморфные грибы отмечены на одной-двух пробных площадях. Новыми для НП «Припятский» дендрофильными микромицетами являются: *Botryosphaerostroma quercina* (Sacc.) Petr., на древесине *Quercus robur*. *Cyclaneusma minus* (Butin) DiCosmo, Peredo & Minter на хвое *Pinus sylvestris*. *Diplodia mutila* (Fr.) Mont., на ветках *Carpinus betulus*. *Ditopella ditopa* (Fr.) J. Schröt., на ветках *Carpinus betulus*. *Dothidea tetraspora* Berk. & Broome, на ветках *Betula pubescens*. *Dothistroma septosporum* (Dorog.) M. Morelet, на хвое *Pinus mugo*. *Erysiphe flexuosa* (Peck) U. Braun & S. Takam., на листьях *Aesculus hippocastanum*. *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter, на листьях *Sorbus aucuparia*. *Hymenoscyphus fraxineus* (T. Kowalski) Baral, Queloz & Hosoya, на побегах *Fraxinus excelsior*. *Hymenoscyphus immutabilis* (Fuckel) Dennis, на листьях *Carpinus betulus*. *Hysterobrevium smilacis* (Schwein.) E. Boehm & C.L. Schoch, на коре *Quercus robur*. *Lecio-grapha parellaria* (Nyl.) Sacc. & D. Sacc., на *Betula pendula*. *Massaria gigantispora* Voglmayr & Jaklitsch, на коре *Carpinus betulus*. *Melanomma aterrima* Fuckel, на коре *Corylus avellana*. *Mollisia benesuada* (Tul.) W. Phillips, на древесине *Betula pendula*. *Mollisia melaleuca* (Fr.) Sacc., на коре *Carpinus betulus*. *Nectria coryli* Fuckel, на ветке *Betula pendula*. *Otthia corylina* P. Karst., на коре *Coryllus avelana*. *Passalora juniperina* (Georgescu & Badea) H. Solheim, на хвое *Juniperus communis*. *Phyllosticta paviae* Desm., на листьях *Aesculus hippocastanum*. *Phytophthora alni* Brasier & S.A. Kirk, на древесине *Alnus incana*. *Polystigma rubrum* (Pers.) DC., на ветке *Tilia cordata*. *Pseudostegia nubilosa* Bubák, н желуде *Quercus robur*. *Pyrenopeziza radians* Rehm, на коре *Carpinus betulus*. *Valsa proximella* Naumov, на ветке *Tilia cordata*.

К инвазивным и потенциально инвазивным дендропатогемам нами было отнесено 12 видов микромицетов, 8 из которых фиксировались на данной территории впервые [7]: *Coleosporium complex*; *Cyclaneusma minus* (Butin) DiCosmo, Peredo & Minter, *Dothistroma septosporum* (Dorog.) M. Morelet, *Erysiphe alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam., *Erysiphe flexuosa* (Peck) U. Braun & S. Takam., *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter, *Hymenoscyphus fraxineus* (T. Kowalski) Baral, Queloz & Hosoya, (*Chalara fraxinea* T. Kowalski). *Melampsoridium betulinum* (Pers.) Kleb., *Ophiostoma complex*. *Passalora juniperina* (Georgescu & Badea) H. Solheim, *Phyllosticta paviae* Desm. (*Guignardia aesculi* (Peck) V.B.Stewart); *Phytophthora alni* Brasier & S.A. Kirk.

Особый интерес представляет выявление на территории парка фитопатогенного оомицета *Phytophthora alni*, внесенного в Единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза (в ред. от 25.01.2023) как вредный организм, отсутствующий на территории Евразийского экономического союза. В Беларуси первое единичное растение с симптомами болезни было выявлено ещё в 2014 г. на территории Терюхского лесничества Гомельского лесхоза [8].

Список литературы

1. Гапиенко О.С., Беломесяцева Д.Б., Шапорова Я.А., Шабашова Т.Г., Углынец А.В., Кориняк С.И., Юрченко Е.О. Микобиота Национального парка «Припятский». Под ред. В.И. Парфенова. – Минск: БГПУ, 2012. – 245 с.
2. Гирилович И.С. К изучению микобиоты национального парка «Припятский» Биологическое разнообразие национального парка «Припятский» и других особо охраняемых территорий: Сб. науч. трудов Национального парка «Припятский». – Туров. – Мозырь: Белый ветер, 1999. – С. – 73-84.
3. Методы экспериментальной микологии. Справочник / Под ред. В.И. Билай. – Киев: Наук. думка, 1982. – 552 с.
4. Падутов В.Е., Баранов О.Ю., Воробаев Е.В.. Методы молекулярно-генетического анализа Минск: Юнипол, 2007. – 176 с.
5. Luchi N., Ioos R, Santini A. Fast and reliable molecular methods to detect fungal pathogens in woody plants. // Applied microbiology and biotechnology. – 2020. – Vol. 104 (6). – P. 2453–2468.
6. Chandelier A. Comparison of qPCR and metabarcoding methods as tools for the detection of airborne inoculum of forest fungal pathogens. Phytopathology. – 2021. – Vol. 111 (3). – P. 570–581.
7. Беломесяцева Д.Б., Шабашова Т.Г., Синявская М.Г., Звягинцев В.Б. Инвазивные дендропатогенные микромицеты в микобиоте приграничных территорий юго-запада Беларуси. Сб. науч. тр. / Ин-т эксп. бот. НАН Беларуси. – Минск, 2021. – Вып. 50: Ботаника (исследования). – С. 248–260.
8. Звягинцев В.Б., Баранов О.Ю., Пантелеев С.В. Продвижение инвазии оомицета *Phytophthora alni* Brasier et S.A. Kirk на восток – первая находка патогена в Беларуси. // Защита лесов от вредителей и болезней: научные основы, материалы, методы: материалы Всероссийской конференции с международным участием. – Иркутск, 2015. – С. 102–104.

К ИССЛЕДОВАНИЮ БАЗИДИОМИЦЕТОВ ПОЛИГОНА «КАРБОН-ПОВОЛЖЬЕ» И ЕГО ОКРЕСТНОСТЕЙ

Бервинова А. А., Потапов К. О.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Карбоновые полигоны – это природная территория с уникальной экосистемой, где проводятся научные

исследования для измерения выбросов и контроля баланса климатических активных газов природных экоси-

стем [1]. Существуют наземные и морские карбоновые полигоны. На территории России на данный момент 18 действующих полигонов. Одним из них является карбоновый полигон «Карбон-Поволжье», задачей которого является организация регулярных мониторинговых наблюдений за потоками основных парниковых газов. Полигон имеет две площадки для сбора данных: «Саралы» и «Обсерватория».

«Обсерватория» – расположена в Зеленодольском районе Республики Татарстан, в фитоценозе, широко распространенном в европейской части России – широколиственном лесу, находящемся под антропогенным давлением средней интенсивности [2]. Основным типом сообщества является липняк волосистоосковый с елью и дубом на дерново-подзолистых почвах (координаты: №55.843215, Е°48.798640). Размер полигона – 25 X 25 м.

Грибы, в отличие от животного и растительного мира, являются слабоизученным элементом на территории России. При том, что их роль в фитоценозах не оспорима – деструкция и гумификация древесины, разложение опада и подстилки, образование микоризы [3]. Нельзя однозначно сказать, как антропогенные условия влияют на микологическое сообщество. Однако на нарушенных участках изменяется количественный состав грибов, соотношение их экологических групп, исчезают некоторые редкие виды грибов, кроме того, некоторые виды изменяют местообитание и даже способ питания [4].

В качестве объекта исследования были выбраны базидиальные макромицеты. Сбор материала проводился маршрутным и стационарным методами в ходе полевых исследований согласно общепринятой методике [5] с 2020 по 2023 год. Для более полной оценки были использованы сведения социальной сети iNaturalist [6]. Так же были использованы база данных «Fungi of Tatarstan», в которой собраны материалы за 2007–2020 годы.

Для успешной идентификации видов особое внимание нужно уделить правильному сбору материала. Для этого во время полевых исследований осуществлялся качественный и количественный учет, тщательно описывались признаки грибов [7]. Также на месте определялся субстрат, на котором рос гриб; по возможности указывалось название вида гриба. В полевой дневник вносились координаты найденного образца, дата его сбора, частота встречаемости, субстрат и тип природного сообщества.

Определение проводилось с использованием микроскопа с максимальным увеличением X1000, а также ряда реактивов и красителей: конго красный, 5% NaOH, Реактив Мельцера.

Для выявления частоты встречаемости видов была использована шкала В. Ф. Малышевой и Е. Ф. Малышевой, в которой категории встречаемости видов обозначены словами, а принадлежность к категории определяется количеством находок того или иного вида: единично – встречен 1 раз, редко – 2–3 находки, нередко – 4–7, часто – более 7 [8].

Для анализа базидиальных макромицетов по трофическим группам была применена система А. Е. Коваленко [9], с некоторыми изменениями Морозовой О. В. [10].

Для составления аннотированного перечня базидиальных макромицетов была использована онлайн-ресурс «Mycobank», предназначенный для установления

приоритетных названий и таксономического положения [11].

В результате проведенной работы на территории карбонового полигона и его окрестностей был выявлен видовой состав базидиальных макромицетов, который составил 125 видов высших базидиомицетов, относящихся к 84 родам, 40 семействам, 11 порядкам.

Наиболее встречаемым порядком является *Agaricales* – 52% от числа всех видов в порядке, по числу встреч лидирует порядок *Polyporales* – 47%. Ведущим семейством по числу встреч и видов является *Fomitopsidaceae*, *Mycenaceae* и *Strophariaceae*. Крупнейшим родом по числу видов является *Pluteus* (6,4 % от количества всех видов). По количеству встреч самым часто встречающимся родом является *Fomes* (23,6 %), а самым встречаемым видом, соответственно – *Fomes fomentarius*.

Среди трофических групп наибольшей по количеству видов является группа сапротрофов, произрастающих на древесине, в количестве 53 видов. Из них наиболее обычными являются: сапротрофы на почве занимают 11,6%, к которым относятся такие виды, как *Lepiota cristata*, *Macrolepiota procera*, *Scleroderma citrinum*, *Lacrymaria lacrymabunda*, *Stropharia cyanea*. На прочих субстратах – 11,6%. Симбиотрофы и паразиты вместе занимают долю 9,2% от всех трофических групп. К наиболее распространенным микоризообразующим относятся представители семейства *Amanitaceae*.

Что касается непосредственно карбонового полигона, то здесь обнаружено 11 видов, из которых наиболее часто встречающимися являются *Fomitopsis pinicola*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis betulina*, *Lycoperdon pyriforme*, *Armillaria* sp..

В результате исследований обнаружено 13 редких видов, в том числе включенных в Красную книгу Республики Татарстан и Приложение к разделу «Грибы» Красной книги Республики Татарстан (*Rhodonia placenta*, *Phlebia centrifuga*, *Pluteus fenzlii*, *Ischnoderma resinosum*, *Hapalopilus croceus*, *Xylobolus frustulatus*, *Mycena epipterygia*, *Fistulina hepatica*, *Tricholomopsis osiliensis*, *Mycena maculata*, *Mycena pterigena*, *Pholiota elegans*, *Gymnopus erythropus*).

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, проект № FZSM-2024-0004

Список литературы

1. Приказ Минобрнауки России от 05.02.2021 № 74 «О полигонах для разработки и испытаний технологий контроля углеродного баланса»
2. Usmanov B. Remote Sensing Monitoring on the Territory of the Volga Carbon Polygon (Republic of Tatarstan, Russia) / B. Usmanov, A. Gafurov, P. Khomyakov, M. Ivanov, M. Kozhevnikova // E3S Web of Conferences. - 2023. - https://repository.kpfu.ru/?p_id=296092
3. Малышева, В. Ф. Высшие базидиомицеты лесных и луговых экосистем Жигулей [Текст] / В. Ф. Малышева, Е. Ф. Малышева. – М.; СПб: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 8 с.
4. Шилкова Т. А. Агарикоидные базидиомицеты города Перьми: Таксономическое разнообразие и экология [Текст] // Шилкова Т. А. – Пермь, 2015. – 3 с.
5. Бондарцев, А. С. Руководство по сбору высших базидиальных грибов для научного их изучения / А. С. Бондарцев, Р. А. Зингер / Труды Ботанического института им. В. Л. Комарова АН СССР, Серия II. Вып. 6. 1950. — С. 499–543.
6. Naturalist [Сайт] // URL: <https://www.inaturalist.org>
7. Переведенцева, Л. Г. Биоразнообразие и экология низших растений. Методика сбора, описание и определения ага-

кодных базидиомицетов: метод. указания для летней полевой практики / Л. Г. Переведенцева. – Пермь: Изд-во Пермск. ун-та, 2007. – 28 с

8. Малышева, В. Ф. Высшие базидиомицеты лесных и луговых экосистем Жигулей [Текст] / В. Ф. Малышева, Е. Ф. Малышева. – М.; СПб: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 81 с.

9. Коваленко А. Е. Экологический обзор грибов из порядка Polyporales s. str., Boletales, Agaricales s. Str., Russulales в горных

лесах центральной части Северо-Западного Кавказа // Микология и фитопатология. 1980. Т. 146 вып. 4. С. 300–314

10. Морозова О. В. Агарикоидные базидиомицеты подзоны южной тайги Ленинградской области: Дис. ... канд. биол. наук. СПб: БИН РАН, 2001. 250 с.

11. Mycobank [Сайт] URL: <http://www.mycobank.org/> (дата обращения 21.03.2024).

НАЧАЛО ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *SARCOSCYPHACEAE* НА ТЕРРИТОРИИ ПРИМОРСКОГО КРАЯ

Бочкарева Ю.В., Богачева А.В.

ФНИЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии, Владивосток

Юг Дальнего Востока России является лидером среди регионов нашей страны по биоразнообразию грибов. Несмотря на привлекательность данной территории для микологических исследований, некоторые представители микобиоты остались без должного внимания, что произошло, скорее всего, по причине отсутствия возможности их практического применения. Не стоит забывать о том, что все организмы, в том числе и те, что не имеют прямого прикладного значения для народного хозяйства, играют свою роль в поддержании важных экологических функций, таких как круговорот питательных веществ, сохранение качества воды и почвы. По этой причине так важно сохранять имеющееся разнообразие фауны и флоры (в том числе микобиоты).

Для реализации программ по сохранению различных природных ресурсов необходимо иметь сведения об их видовом составе, специфике распространения и наиболее редких и уязвимых представителях, которые могут быть рекомендованы к включению в Красные книги. Так, объектом нашего исследования стало семейство *Sarcoscyphaceae* Le Gal ex Eckblad, включающее малоизученные сапротрофные виды, участвующие в разложении древесных остатков, богатых целлюлозой и лигнином. Экологическая роль представителей данного семейства заключается в переработке сложных органических веществ в доступные для других участников биоценоза питательные соединения (Zhu et al. 2023).

К саркосцифовым относится 12 родов, а именно *Aurophora* Rifai, *Cookeina* Kuntze, *Geodina* Denison, *Komposocypha* Pfister, *Microstoma* Bernstein, *Nanoscypha* Denison, *Phillipsia* Berk., *Pithya* Fuckel, *Pseudopithyella* Seaver, *Rickiella* Syd. & P. Syd. ex Rick, *Sarcoscypha* (Fr.) Boud., *Thindia* Korf & Waraitch (Pfister et al. 2020). Большая часть разнообразия *Sarcoscyphaceae* сконцентрирована в тропических и субтропических лесах с обилием древесных остатков в подлеске: юго-запад Китая и Таиланда (Zeng et al. 2023; Zhu et al. 2023), п-ов Корея (Alshammari et al. 2021), острова Японии (Tochihara et al. 2021), Италия (остров Сицилия) (Ferraro et al. 2022), Эфиопия (Dejene et al. 2021) и Пакистан (Aman et al. 2022).

Отечественными научными группами было показано, что представители *Sarcoscyphaceae* также встречаются и на территории нашей страны: на настоящий момент есть данные о четырех родах: *Microstoma* sp., *Phillipsia* sp., *Pithya* sp. и *Sarcoscypha* sp. Среди них есть редкие и охраняемые виды: так, *Microstoma protractum* (Fr.) Капоузе рекомендован к включению в Красные книги республики Коми и Мурманской области (Па-

ламарчук и др., 2019), а также внесен в Красную книгу Чувашской области (Гафурова и др., 2020). В микобиоте южной части российского Дальнего Востока также участвует ряд видов этого семейства.

Род *Sarcoscypha* sp. на территории России представлен несколькими видами. *S. austriaca* (O. Beck ex Sacc.) Boud. var. *austriaca* является обычным подвидом в ее европейской части. Другой подвид *S. austriaca* (O. Beck ex Sacc.) Boud. var. *lutea* Ruini et Ruedl - довольно редкая разновидность, отличающаяся желто-оранжевой окраской гимениального диска (Попов и др., 2014). Вид *S. coccinea* (Jacq.) Cooke был рекомендован к включению в Красные книги Ивановской области (Минеева, 2012) и Приморского края (Бухарова и др., 2022). Для заповедника Бастак (Еврейская автономная область) указан в качестве нового для данной территории вид *S. vassiljevae* Raitv. (Богачева, 2006). Род *Phillipsia* sp. представлен в микобиоте России одним видом, а именно *P. domingensis* (Berk.) Berk., произрастающим в хвойно-широколиственных лесах Дальнего Востока (Богачева, 2008).

Исследования по саркосцифовым, проводимые отечественными микологами, ограничены традиционной методикой идентификации, подразумевающей изучение морфологических характеристик. В иностранных работах, напротив, делается акцент на молекулярно-генетические методы. Генетические данные используются как и при идентификации образцов саркосцифовых (Alshammari et al. 2021; Kim et al. 2015), так и при уточнении филогенетических связей внутри семейства (Harrington et al. 1999; Romero et al. 2012). Наиболее популярным маркером в исследованиях, посвященных *Sarcoscyphaceae*, является внутренний транскрибируемый спейсер (ITS): его последовательности доступны почти для всех таксонов данного семейства, для которых были получены молекулярные данные (Zeng et al. 2023).

В генетическом анализе, проводимом в нашем исследовании, также будет использован этот маркер для уточнения таксономического статуса образцов *Microstoma* spp. и *Sarcoscypha* spp. Предварительно по морфологическим характеристикам микростома, обнаруженная на территории национального парка “Удэгейская легенда” (Приморский край), была определена как *Microstoma longipilum* Tochihara, T. Hirao & Hosoya. Этот вид был недавно описан как новый для науки, и в настоящем считается эндемиком Японских островов (Tochihara et al. 2021). Таким образом, если молекулярно-генетический анализ подтвердит нашу гипотезу, то это будет первый

случай обнаружения этого вида за пределами Японии. А саркосцифа, найденная в Партизанском районе Приморского края, была определена по морфологическим признакам как *Sarcoscypha dudleyi* (Peck) Baral (Zeng et al. 2023). Этот вид ранее не был отмечен на территории России.

Таким образом, включение в исследование микобиоты молекулярно-генетических методов, несомненно, повлечет за собой ревизию коллекционных данных и сведений о видовом разнообразии представителей семейства *Sarcoscyphaceae* в микобиоте Приморского края.

Список литературы

1. Zhu, Z. Forest Type and Climate Outweigh Soil Bank in Shaping Dynamic Changes in Macrofungal Diversity in the Ancient Tree Park of Northeast China / Z. Zhu, X. Liu, T. Hsiang, R. Ji, S. Liu // J. Fungi. - 2023. - 9, 856. - P. 1-20.
2. Pfister, D.H. Geodina (Pezizomycetes: Wynneaceae) has a single widespread species in tropical America. / D.H. Pfister, L. Quijada, K.F. LoBuglio // Fungal Syst. Evol. - 2020. - 5. - P. 131-138.
3. Zeng, M. Phylogeny and Morphology of Novel Species and New Collections Related to Sarcoscyphaceae (Pezizales, Ascomycota) from Southwestern China and Thailand / M. Zeng, E. Gentekaki, K.D. Hyde, Q. Zhao, N. Matocec, I. Kušan // Biology. - 2023. - 12, 130. - P. 1-44.
4. Alshammari, N. Characterizing the Assemblage of Wood-Decay Fungi in the Forests of Northwest Arkansas / N. Alshammari, F. Ameen, M.D. F. AlKahtani, S. Stephenson // J. Fungi. - 2021. - 7, 309. - P. 1-9.
5. Tochihara, Y. *Microstoma longipilum* sp. nov. (Sarcoscyphaceae, Pezizales) from Japan / Y. Tochihara, T. Hirao, M. Ohmae, K. Hosaka, T. Hosoya // Mycoscience. - 2021. - V.62. - P. 217-223.
6. Ferraro, V. The Checklist of Sicilian Macrofungi: Second Edition / V. Ferraro, G. Venturella, F. Cirlincione, G. Mirabile, M.L. Gargano, P.J. Colasuonno // Fungi. - 2022. - 8, 566. - P. 1-49.
7. Dejene, T. Retention of Matured Trees to Conserve Fungal Diversity and Edible Sporocarps from Short-Rotation Pinus radiata Plantations in Ethiopia / T. Dejene, E. Worku, P. Martín-Pinto // J. Fungi. - 2021. - 7, 702. - P. 1-22.
8. Aman, N. A compendium of macrofungi of Pakistan by ecoregions / N. Aman, A.N. Khalid, J.-M. Moncalvo / - MycoKeys. - 2022. - 89 / - P. 171-233.
9. Паламарчук, М.А. Виды грибов, рекомендуемые для включения в третье издание Красной книги республики Коми /

М. А. Паламарчук, Д. В. Кириллов, Д. А. Косолапов, А. Г. Шириев, Ю. А. Ребриев // Труды Карельского научного центра РАН. - 2019. - № 8. - С. 5-16.

10. Гафурова, М.М. Красная книга Чувашской Республики. Том 1. Часть 1: Редкие виды растений и грибов. - Издание второе, переработанное и дополненное / Науч. ред. М.М. Гафурова, М.С. Игнатов, Т.Ю. Толпышева, Т.Ю. Светашева; под общ. ред. М.М. Гафуровой. - Москва: Издательство «Буки Веди», 2020. - 332 с.
11. Попов, Е.С. Новые данные об аскомицетах Новгородской области / Е. С. Попов, С. Н. Арсланов // Новости сист. низш. раст. - 2014. - 48. - С. 204-218.
12. Минеева, Л. Ю. Новые сведения о редких видах грибов в Ивановской области / Л. Ю. Минеева // Вестник Ивановского государственного университета. Серия «Естественные, общественные науки». - 2012. - Вып. 2. - С. 22-25.
13. Бухарова, Н.В. Нуждающиеся в охране виды грибов Приморского края Дальнего Востока России (к обновлению региональной Красной книги) / Н.В. Бухарова, Е.М. Булах, В.А. Спирин, А.В. Богачева // Биота и среда природных территорий. - 2022. - т. 10, № 1. - С. 69-83.
14. Богачева, А.В. Первые сведения о дискомицетах заповедника «БАСТАК». / А.В. Богачева // Микология и фитопатология. - 2006. - Т.40. Вып.4. - С. 271-277.
15. Богачева, А.В. Видовое разнообразие дискомицетов, развивающихся на подстилке в дальневосточных хвойно-широколиственных лесах. // А.В. Богачева // Микология и фитопатология. - 2008. - Т.42. Вып.1. - С.13-19.
16. Наумов, Н.А. Флора грибов Ленинградской области / Н.А. Наумов. - Москва: Наука, 1964. - 255 с.
17. Kim, C.S. Mushroom Flora of Ulleung-gun and a Newly Recorded Bovista Species in the Republic of Korea / C.S. Kim, J.W. Jo, Y.-N. Kwag et al. // Mycobiology. - 2015. - 43(3). - P. 239-257.
18. Harrington, F. A. Phylogenetic studies within the Pezizales. I. 18S rRNA sequence data and classification / F. A. Harrington, D. H. Pfister, D. Potter, M. J. Donogh // Mycologia. - 1999. - 91(1). - P. 41-50.
19. Romero, A.I. *Rickiella edulis* and its phylogenetic relationships within *Sarcoscyphaceae* / A.I. Romero, G. Robledo, K.F. LoBuglio, D.H. Pfister // Kurtziana. - 2012. - 37. - P. 79-89.

«СКРЫТОЕ» РАЗНООБРАЗИЕ СТАНОВИТСЯ ВИДИМЫМ: УСПЕХИ ПРОЕКТА ПО ОЦИФРОВКЕ ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ О РАСПРОСТРАНЕНИИ AGARICOMYCOTINA В РОССИИ

Большаков С. Ю., Волобуев С. В., Калинина Л. Б.
Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

Исследования по изучению фунги Agaricomycotina России проводятся вот уже 200 лет, если вести отсчёт от работ Э. М. Фриза и И. А. Вайнманна, в которых описываются виды с Камчатки и из Санкт-Петербурга. Число опубликованных научных работ, в которых имеются сведения о выявлении на территории России видов Agaricomycotina, росло эти годы по экспоненте — на 2024 год их число приближается к 3 тысячам. Объём, качество и важность этих работ естественно отличаются, а их практическая ценность уменьшается в глубь истории по мере вовлечения всё большего числа видов в

молекулярно-генетические исследования. Тем не менее этот корпус данных остаётся одним из важнейших столпов, на которые опираются современные исследования по фунге и таксономии грибов в России.

Десятилетие назад нами была поставлена цель — извлечь накопленные за два века данные из научной литературы, чтобы иметь чёткое представление о том, какие именно виды и где конкретно известны, на каком основании, каков современный статус. Эта амбициозная цель требовала решения ряда задач.

Первая задача состояла в подготовке корпуса литературы — поиске и сборе всех возможных научных публикаций, содержащих сведения о распространении *Agaricomycotina* в России. Работы в этом направлении состояли в поиске полных текстов и тщательном просмотре всего содержимого всех статей и книг, выявленных в ходе просмотра полных архивов российских и зарубежных микологических и ботанических журналов, исторических обзоров микологических и ботанических исследований, библиографий, профилей микологов в библиографических базах данных, списков цитируемой литературы в уже отобранных публикациях — с многократной итерацией до исчерпания пула подходящих работ. Также, продолжается регулярное отслеживание появления новых публикаций. Метаданные всех собранных публикаций вносятся в библиографическую базу данных на основе Juris-M (форк Zotero с поддержкой мультязычности), и предпринимаются все возможные меры по поиску и оцифровке полных текстов. В настоящее время собранная база включает почти 2700 работ за 1761–2024 годы, из которых для 85% имеются полные тексты.

Вторая задача включала разработку и заполнение базы данных для хранения информации о распространении, экологических особенностях и таксономическом статусе используемых названий таксонов. Извлекаемый минимум из каждой публикации («кто») — «что» (название таксона) и «где» (географическая информация), в виде дословного оригинального текста. Дальнейшая работа состоит в разборе этой оригинальной информации и привязке её к названиям таксонов и административных регионов. Для увеличения ценности и достоверности в базу данных вносилась по возможности дополнительная информация — расширенная географическая информация, данные о цитируемых образцах и источниках, экологическая информация, информация о переопределениях, комментарии об идентификации таксонов, географическом положении, статусе находок. Отдельно нужно упомянуть блок информации о номенклатурном и таксономическом статусе названий таксонов, без которой невозможна современная интерпретация извлекаемых из публикаций названий таксонов грибов, большинство из которых сейчас сведены в синонимы. Номенклатурная информация строится на основе регулярно обновляемой копии *Index Fungorum*, в настоящее время включает около 13 тысяч названий. Статус названий (принимаемые названия, их синонимы и неправильно применяемые названия, названия с неясным таксономическим статусом), а также классификация таксонов надродовых рангов определяется по широкому набору современных работ по таксономии грибов, и регулярно уточняется по мере появления новых исследований. В виду относительной компактности отслеживаемой группы и налаженному процессу ознакомления с новыми работами удаётся поддерживать

выверенную таксономическую базу данных, лишённую многих ошибок, присущих *Index Fungorum* etc.

За 10 лет в оцифровке данных публикаций приняли участие 13 специалистов из разных городов России. Совместными усилиями удалось успешно подготовить срезы состояний исследований — списки по агарикоидным и боленоидным грибам России (Bolshakov et al. 2021) и афиллофороидным грибам европейской части России (Большаков и др. 2022). Тем не менее, постоянный прирост новых сведений требует регулярного обновления полученных списков, их уточнения согласно новым таксономическим исследованиям и дополнения пропущенными и новыми публикациями. Мы призываем всех желающих принять участие в этой работе.

На март 2024 года обработаны 2 тысячи научных публикаций. Основная таблица с данными о распространении в базе данных содержит более 200 тысяч строк, содержащих сведения о выявлении на территории России 12 тысяч научных названий видов и внутривидовых таксонов, по современным представлениям соответствующих 5150 видам. Из них чуть более 3200 относятся к агарикоидным, и крупнейшим родом из которых является *Cortinarius* — около 300 видов, с учётом современного разбиения его на 10 отдельных родов. Из 89 административных регионов России имеются сведения для 88 регионов — по-прежнему отсутствуют какие-либо данные по Республике Ингушетия. Только для двух регионов выявлено чуть более 2 тысяч видов — Приморского края и Ленинградской области, ещё для двух регионов известно чуть более 1800 видов — Красноярского края и Свердловской области. Всего для 19 регионов опубликовано больше тысячи видов, а для 5 — менее 100 видов. Однако следует учитывать, что в базу данных остаются невнесёнными более 300 публикаций, преимущественно по афиллофороидным азиатской части России.

Список литературы

1. Bolshakov S., Kalinina L., Palomozhnykh E., Potapov K., Ageyev D., Arslanov S., Filippova N., Palamarchuk M., Tomchin D., Voronina E. Agaricoid and boletoid fungi of Russia: the modern country-scale checklist of scientific names based on literature data // *Biological Communications*. 2021. Vol. 66. № 4. P. 316–325. <https://doi.org/10.21638/spbu03.2021.404>
2. Большаков С. Ю., Волобуев С. В., Ежов О. Н., Паломозных Е. А., Потапов К. О. Афиллофороидные грибы европейской части России: аннотированный список видов / отв. ред. С. Ю. Большаков, С. В. Волобуев. СПб.: Изд-во СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2022. 578 с.

К ВОПРОСУ О ЛЕСОТИПОЛОГИЧЕСКОЙ ПРИУРОЧЕННОСТИ *INONOTUS OBLIQUUS* (ACH. EX PERS.) PILÁT В УСЛОВИЯХ БЕЛАРУСИ

Бордок И.В., Маховик И.В., Волкова Н.В., Родионов С.Ф.
Институт леса Национальной академии наук Беларуси, Гомель

Наибольшую известность трутовик скошенный (*Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát) получил в качестве индуктора и основного продуцента чаги: комплекса

грибного мицелия (стерильная, вегетативная форма), продуктов деградации и ассимиляции грибом компонентов тканей березовой древесины. Морфологически

чага представляет собой твердые крупные (до 50 см в диаметре, толщиной 10-15 см) наросты массой до 5 кг, овальной или круглой формы с глубоко растрескавшейся черной поверхностью. Внутренняя ткань чаги черно-коричневая, твердая, но по направлению к древесине значительно светлее, не настолько твердая и часто пронизана мелкими желтоватыми прожилками [1]. При благоприятных условиях наросты могут формироваться на протяжении нескольких десятилетий, при этом вызывая желто-белую коррозионно-деструктивную ядровую гниль березы [2]. Уплотненное, вначале кожисто-мясистое, затем твердеющее, буровато-коричневое плодовое тело гриба формируется под корой на отмерших частях зараженных деревьев, либо непосредственно перед его полным усыханием [3].

В составе чаги обнаружен богатый комплекс соединений различной химической природы (тритерпеноиды (инотодиол, бетулин, траметеновая кислота, ланостановые производные), полифенолы, простые и сложные сахара, ароматические и жирные кислоты, аминокислоты, полипептиды и др.), многие из которых проявляют специфический характер биологической активности и эффективны в профилактике и лечении ряда онкологических, сердечно-сосудистых заболеваний, диабета, туберкулеза, успешны при аллергии, регулируют кровяное давление и содержание липидов в крови, являются активными антиоксидантами, а также стимулируют иммунную систему организма [4]. Определенный интерес представляет комплекс меланинов чаги способный не только сорбционно связывать ионы тяжелых металлов [5], но и проявляющий выраженные противовирусные свойства в отношении вируса иммунодефицита человека [6], а также пандемического вируса гриппа [7].

Обзор методической литературы по инвентаризации лекарственного сырья в лесном фонде показывает практически полное отсутствие упоминаний о чаге. Исключениями можно считать лишь «Методику определения запасов лекарственных растений» [8] утвержденную Госкомлесом СССР и «Методическое пособие по заготовкам дикоросов на территории Томской области» [9], где чага упоминается, но только в списке лекарственных растений, а также методические указания по инвентаризации зарослей лекарственных растений в лесах Карелии, где приводится расчет выхода лекарственного сырья чаги по группам объемов наростов [10].

Согласно современному состоянию систематики грибов трутовик скошенный *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát относится к семейству Гименохетовые, порядка Гименохетовые, класса Агарикомицеты, отдела Базидиомицеты [11]. В качестве русского названия чаги в литературе встречаются следующие синонимы: трутовик скошенный, трутовик косотрубчатый, березовый гриб, черный березовый гриб, черный гриб.

Для Беларуси Э.П. Комарова [12] описывает 6 видов рода *Ининотус*, причем один из них не обнаружен и приводится со ссылкой на литературные источники. На сопредельной территории Российской Федерации, по данным Л.В. Гарибовой этот род представлен 15 видами [13]. В целом мировое разнообразие этого рода составляет не менее 80 видов [11, 14].

Данные о эколого-биологических особенностях распространения *I. obliquus* в научной литературе носят слишком общий характер. В качестве возможных его

локалитетов большинство авторов указывают лишь спелые и перестойные березняки.

Особый интерес микологическим исследованиям придает географическое положение Беларуси в зоне сопряжения хвойных (южно-таежных) и широколиственных лесов.

Целью настоящей работы являлось изучение эколого-биологических особенностей распространения трутовика скошенного в березовых фитоценозах Беларуси.

Обследование березовых насаждений проведено на протяжении 2021-2023 годов в 12 лесхозах и 3 экспериментальных лесных баз Института леса НАН Беларуси во всех геоботанических подзонах страны. Выявлено 323 местопроизрастания трутовика скошенного: 830 деревьев с признаками поражения *I. obliquus* – сформировавшейся чагой на стволе, общей площадью 818 га. Для каждого случая обнаружения выполнено лесотаксационное и фитоценотическое описание насаждения, морфологические описания дерева-хозяина и склероциев гриба, а собранные параметры сведены в электронную базу данных.

В целом по Беларуси биогеоценотическая типологическая структура березняков, с признаками поражения трутовиком скошенным, довольно сложна и насчитывает 37 ассоциаций 14 типов леса. При этом подавляющее большинство (78,3 %) выявленных фитоценозов представляют 3 наиболее распространенных типа: березняки кисличный (ассоциации елово-, лещиново-, чернично-кисличная и ряд других) – 35,0 %, березняки черничный (прежде всего ассоциации елово-, орляково-, и сосново-черничная) – 27,6 % и березняки орляковые (ассоциации елово-, сосново- и кислично-орляковая) – 15,8 %. Несколько реже чага встречается в березняках папоротниковых (6,5 % обследованных выделов), березняках мшистых (5,3 %), березняках снытевых (3,4 %) и березняках долгомошных (2,5%). Остальные типы леса представлены лишь единичными выделами отдельных ассоциаций.

Распределение выделов с признаками поражения березы трутовиком скошенным по типам лесорастительных условий в соответствии с эдафической сеткой не очень наглядно, но все-таки показывает смещение максимума их встречаемости в сторону более богатых, но сухих условий. При этом в лесорастительных условиях Беларуси поражение березы трутовиком скошенным не обнаруживалось только в сухих и очень сухих условиях (гигротопы 0 и 1). Около 63 % выявленных насаждений сосредоточены в свежих местопроизрастаниях, и представлены, в зависимости от плодородия почвы мшистым (в условиях трофотоп А), орляковым (В) или кисличным (Д) типами леса.

Рассмотрение каждого фактора среды изолированно показывает обратную зависимость встречаемости чаги от индекса влажности типа лесорастительных условий, выраженную логарифмической функцией $y = -133,7 \ln(x) + 186,96$, с коэффициентом детерминации 0,9931, позволяющую использовать его в качестве одного из критериев отбора выделов с высокой вероятностью обнаружения гриба.

По отношению к плодородию почв местопроизрастания трутовика скошенного в лесорастительных условиях Беларуси охватывают весь существующий диапазон изменчивости, при этом довольно равномерно распределяясь по трофотопам (трофотоп В – 37,5; С – 26,9; Д

– 26,9 %), за исключение несколько меньшего представительства наиболее бедных условий (трофотоп А – 8,7 %). В контексте лесорастительного районирования обследованные насаждения не имеют принципиальных отличий, обращает на себя внимание лишь небольшое смещение их количества в сторону более бедных борových условий (А – 18,7 %) за счет снижения доли дубравных (Д – 8,0 %) в подзоне широколиственно-сосновых лесов.

В целом типологическое распределение выявленных местопроизрастаний трутовика скошенного соответствует таковому для березняков Беларуси, если не в долевом, то по крайней мере в ранговом отношении [15, 16].

Список литературы

1. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР // отв. ред.: Л.Н. Зайко, А.И. Шретер. – Москва: ГУТК, 1976. – С. 322.
2. Федоров Н.И. Лесная фитопатология / 3-е изд. – Минск: БГТУ, 2004. – С. 352-354.
3. Атлас-определитель дереворазрушающих грибов лесов Русской равнины / Стороженко В.Г., Крутов В.И., Руоколайнен А.В., Коткова В.М., Бондарцева М.А. – М.: Аквариус, 2016. – С. 62-63.
4. Белова Н.В. О необходимости изучения биологии и биохимической активности *Inonotus obliquus* // Микология и фитопатология. – 2014. – Т. 48. – № 6. – С. 401-403.
5. Сушинская Н.В., Курченко В.П. Сорбция тяжёлых металлов меланиновыми пигментами ряда дереворазрушающих грибов // Теоретическая и прикладная экология. – 2019. – № 4. – С. 83-87.
6. Гашникова Н.М., Балахнин С.М., Теплякова Т.В., Ананько Г.Г., Косогова Т.А., Сухих А.С. Антиретровирусная актив-

ность меланинов из природной и культивируемой чаги (*Inonotus obliquus*) // Успехи медицинской микологии. – 2014. – Т.12. – С.299-301.

7. Противовирусные свойства водных экстрактов, выделенных из высших базидиомицетов, в отношении пандемического вируса гриппа А(H1N1)2009 / Е.И. Филиппова, Н.А. Мазуркова, А.С. Кабанов и соавт. // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 2. – С. 413-419.

8. Методика определения запасов лекарственных растений / сост.: А.И. Шретер, И.Л. Крылова, Н.А. Борисова, Л.Е. Курлович, И.В. Бочаров – М.: ЦБНТИ Госкомлеса СССР, 1986. – 51 с.

9. Методическое пособие по заготовкам дикоросов на территории Томской области / А.М. Адам, А.И. Таловский, Е.Е. Тимошок и соавт. – Томск: ТГУ, 2006. – 45 с.

10. Инвентаризация зарослей лекарственных растений в леса Карелии (методические указания) / сост. В.И. Саковец. – Петрозаводск: Институт леса Карельского филиала АН СССР, 1984. – 18 с.

11. База данных названий микологических таксонов Index Fungorum: [сайт]. URL: <http://www.indexfungorum.org/names/NamesRec-ord.asp?RecordID=315905> (дата обращения 18.02.2024).

12. Комарова Э.П. Определитель трутовых грибов Белоруссии. – Минск: Наука и Техника, 1964. – С. 202-203.

13. Гарибова Л.В., Сидорова И.И. Грибы. Энциклопедия природы России. – Москва: АБЕ, 1997. – С. 145.

14. Вишневский М.В. Чага: звездный час. Современные сведения об уникальном российском грибе. – М.: Проспект, 2022. – 128 с.

15. Государственный лесной кадастр Республики Беларусь по состоянию на 01.01.2020 г. – Минск: Белгослес, 2020. – 65 с.

16. Федорович Л. В. Современная характеристика березняков Беларуси // Труды БГТУ. – Минск: БГТУ, 2012. – № 1 (148). – С. 124-126.

МИКОБИОТА КЕДРА КОРЕЙСКОГО (*PÍNUS KORAIENSIS*)

Борзова А.С.

Дальневосточный Федеральный университет, Владивосток

Кедр корейский (*Pinus koraiensis* Siebold et Zucc.), без сомнения, наиболее ценная порода из древесных хвойных растений, произрастающих на российском Дальнем Востоке. Общий ареал включает территорию на северо-востоке Китая, Японии, Кореи, в России - Приморский и Хабаровский края, юго-восток Амурской области (Дроздов И.И., Коженкова А.А. Белинский М.Н.). Кедровые древостои, отличающиеся высокой производительностью стволовой древесины, являются объектом интенсивных лесозаготовок, тем самым существенно обедняется генофонд кедра. Назрела необходимость создания искусственных плантаций кедра целевого назначения. В этом свете остро встает проблема нехватки сведений о «грибной» составляющей его жизни и развития.

Одним из вариантов участия грибов в развитии растения является симбиоз. Микориза - это симбиотическая связь между грибами и корнями растений, в результате которой обе части получают преимущества (Smith, Read, 2008). Грибы обеспечивают растению воду и минеральные соли, а растение предоставляет грибу органическое вещество. Микориза может увеличивать устойчивость растений к биотическому и абиотическому стрессу (Miransari, 2011), улучшать их рост и развитие, а также снижать концентрацию токсичных соединений в почве (Harley, Smith, 2004). Микоризные грибы производят ряд ферментов, разрушающие токсичные вещества в почве, такие как ртуть, свинец, кадмий и другие тяжелые металлы. Микоризные грибы производят метаболиты, которые могут препятствовать росту патогенных грибов, либо останавливать их распро-

странение по корневой системе растения (Fortin, Bond, 2005), (Živanović et al., 2014). Группа симбиотрофов кедра корейского изучена недостаточно как в российской, так и в мировой науке. Вместе с тем, уже известно о 64 таксонах, выделенных из микоризных окончаний кедров, произрастающих в Сихотэ-Алинском заповеднике (В.Ф. Малышева, Е.Ф. Малышева, А.Е. Коваленко, Е.А. Пименова, М.Н. Громыко, С.Н. Бондарчук, 2014). Требуются дальнейшие комплексные исследования, включающие инвентаризацию видового состава, изучение функциональных ролей различных симбиотрофов и их взаимодействий с кедром корейским (Боковая, Богуславская, 2014). Это позволит лучше понять экологию и устойчивость кедровых лесов, а также разработать эффективные стратегии их сохранения и восстановления. В российской науке исследования симбиотрофной микробиоты кедра корейского проводились, но в ограниченном масштабе. Основные работы сосредоточены на изучении эктомикоризных грибов, образующих симбиотические ассоциации с корнями кедра. Было выявлено около 100 видов грибов, образующих эктомикоризу с кедром корейским, в том числе представителей родов *Amanita*, *Russula*, *Lactarius*, *Cortinarius* и др. (В.Ф. Малышева, Е.Ф. Малышева, А.Е. Коваленко, Е.А. Пименова, М.Н. Громыко, С.Н. Бондарчук, 2014). Исследования эндофитных грибов, обитающих внутри тканей кедра, и других групп симбиотрофов были менее масштабными. Лишь в последние годы появились отдельные работы, посвященные изучению эндофитных грибов кедра корейского. Стоит отметить, что в последние годы интерес к изучению благоприятной микробиоты на

хвойных породах, в том числе на кедре корейском, возрастает. Появляются новые методы исследований, такие как молекулярно-генетический анализ, позволяющий идентифицировать виды грибов по их рДНК. Это открывает перспективы для более глубокого изучения симбиотрофов и их роли в жизни деревьев. В мировой науке исследования симбиотрофной микробиоты кедр корейского также не получили широкого распространения. Большая часть работ была сосредоточена на изучении эктомикоризных грибов родственных хвойных пород, таких как сосна, ель, пихта (Igor N. Pavlov, Rimvydas Vasaitis, Yulia A. Litovka, Anton A. Timofeev and Audrius Menkis). Требуется дальнейшие комплексные исследования, включающие инвентаризацию видового состава, изучение функциональных ролей различных симбиотрофов и их взаимодействий с кедром корейским. Это позволит лучше понять экологию и устойчивость кедровых лесов, а также разработать эффективные стратегии их сохранения и восстановления.

Участие грибов в жизни растения имеет и другие аспекты. Дереворазрушающие виды грибов на кедре корейском были исследованы почти век назад (Любарский, Васильева, 1975). Круг опасных видов, вызывающих различные гнили у дальневосточных кедров включал 8 видов: *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm., *Climacocystis borealis* (Fr.) Kotl. & Pouzar, *Fomitopsis officinalis* (Vill.) Bondartsev & Singer, *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref., *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Phaeolus schweinitzii* (Fr.) Pat., *Phellinus hartigii* (Allesch. & Schnabl) Pat. и *Porodaedalea pini* (Brot.) Murrill.

Довольно детально исследована и до сих пор интенсивно разрабатывается группа ржавчинных грибов, вызывающая образование ржавчинных подушечек на стволах и ветвях, приводя к деформациям и ослаблению деревьев (Азбукина, 2005).

В зоне наших интересов особая группа грибов – Ascomycetes (сумчатые), также включающая опасные патогенные виды. Самым известным является возбудитель Шютте хвои *Lophodermium pinastri* (Schrad.) Chevall. В фондах Дальневосточного регионального гербария (VLA) хранятся образцы этого вида с 1958 года. На фоне глобального потепления мы допускаем возможность появления в границах ареала кедр более широкого круга ритисмовых грибов (Rhytismatales), способных вызывать различные заболевания как сеянцев, так и взрослых растений. Эти грибы могут наносить серьезный ущерб кедровым лесам, снижая их продуктивность и устойчивость. Для сохранения здоровья кедровых насаждений необходимо своевременное выявление и контроль распространения опасных патогенов.

Необходимо также отметить существование еще одного аспекта взаимодействия хвойного растения и грибов. Это деструкционные процессы при выпадении в древостое отдельных особей. Группа сапротрофных грибов, разлагающая древесину или хвойный опад, весьма обширна. Мы располагаем коллекцией сумчатых грибов, образцы которых собраны на *Pinus koraiensis* в различных стадиях разложения растительного опада. Это предмет наших исследований. Для этого будут использоваться различные методы, включая анализ генетических данных.

В целом, роль микробиоты во взаимодействии грибов и растений охватывает широкий спектр аспектов, начиная от симбиотических отношений и заканчивая биохимическими процессами в растениях. Ученые микологи изучают эти взаимодействия, чтобы понять особенности их механизмов, определить полезные и

негативные последствия для растений и экосистем, и разработать стратегии управления для повышения экологической стабильности и устойчивости растений в различных экосистемах. Существует явная необходимость продолжения исследований и разработки новых подходов к изучению микробиоты кедр корейского, связанной с группой патогенных грибов, которые развиваются на кедре. Возможен призыв к международному сотрудничеству в области изучения микробиоты кедр корейского и разработки инновационных методов защиты и сохранения кедровых лесов.

Список литературы

1. Азбукина З.М. Ржавчинные грибы (Низшие растения, грибы и мохообразные Дальнего Востока России. Грибы; Т.5). Владивосток: Дальнаука, 2005. 616 с.
2. Малышева В.Ф., Малышева Е.Ф., Коваленко А.Е., Пименова Е.А., Громыко М.Н., Бондарчук С.Н. Эктомикоризные симбионты *Pinus koraiensis* в лесах Центрального Сихотэ-Алиня, выявленные на основании анализа рДНК микоризных окончаний // Микология и фитопатология, 2014. Т. 6 (48). С. 372-385.
3. Miransari M. Role of mycorrhizal fungi in plant growth promotion and stress alleviation // Current Opinion in Biotechnology, 2011. Vol.22. P. 25-33.
4. Harley P.D., Smith D.G. Mycorrhizas: an introduction to the ecology and biology of mutualistic symbioses between roots and fungi. Cambridge University Press, 2004.
5. Fortin D.M., Bond D.A. The role of mycorrhizas in ecosystem processes: a synthesis // Ecology, 2005. Vol. 86. P. 1559-1571.
6. Živanović K., Grabovac B., Vujanović M., Maksimović N., Popović A., Ristic M. Mycorrhizal associations of *Pinus koraiensis* (Pinaceae) in the eastern part of its distribution range in Serbia // Mycological Research, 2014. Vol.118 P.1653-1661.
7. Igor N. Pavlov, Rimvydas Vasaitis, Yulia A. Litovka, Anton A. Timofeev and Audrius Menkis Infestation by *Ips amitinus* (Eichhoff, 1872), Its Associated Fungi, and Butt Rots in Stands of *Pinus sibirica* in South-Western Siberia // Forests 2023,14, 2383. P.4
8. Дроздов И.И., Коженкова А.А., Белинский М.Н. - Репродукция сосны кедровой корейской в Подмосковье // Лесной вестник / Forestry bulletin, 2013. С. 4.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ *HERICIUM CORALLOIDES* (SCOP.) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СУБСТРАТОВ В УСЛОВИЯХ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ЛОСИНЫЙ ОСТРОВ»

Брыков Г.М., Зубкова В.М., Горбунова В.А.

Российский государственный социальный университет, Москва

Аннотация. В статье приведены результаты мониторинга распространности занесенного в Красные книги г.Москвы и Подмосковья ксилосапротрофа ежевика коралловидного (*Hericium coralloides* (Scop.)). Выявлено, что в Национальном парке (НП) «Лосиный остров» предпочитаемыми субстратами для этого гриба являются упавшие деревья и березовый валежник. Условия парка способствуют увеличению распространности гриба, его можно отнести к виду, восстанавливающемуся в численности.

Ключевые слова: антропогенная нагрузка, ежевик коралловидный, ксилосапротроф, Красная книга, НП Лосиный остров.

Роль биоразнообразия в обеспечении устойчивого развития заключается в том, что оно является условием нормального функционирования экосистем, от которых зависит благополучие человека [1].

В настоящее время темпы потерь разнообразных видов флоры и фауны в несколько тысяч раз выше, чем при естественных процессах вымирания; каждый год исчезает от 0,01% до 0,1% от общего числа видов – то есть от 200 до 2000 тысяч [1].

Подавляющее большинство мирового биоразнообразия суши сосредоточено в лесах – от бореальных лесов крайнего Севера до тропических дождевых лесов.

Грибы являются очень значимыми обитателями лесов из-за их высокой пластичности и способности принимать различные формы в ответ на неблагоприятные условия. Благодаря своей способности продуцировать широкий спектр внеклеточных ферментов, они способны расщеплять все виды органических веществ, и тем самым регулировать баланс углерода и питательных веществ. Многие виды грибов обладают способностью действовать как эффективный биосорбент токсичных металлов, таких как кадмий, медь, ртуть, свинец и цинк, накапливая их в своих плодовых телах. При этом необходимо учитывать, что эти элементы могут препятствовать их росту и влиять на их размножение. Разнообразие и активность грибов регулируются различными биотическими (растения и другие организмы) и абиотическими (pH почвы, влажность, засоленность, структура и температура) факторами. Грибы можно встретить практически в любой среде обитания, и они могут жить в широком диапазоне значений pH и температуры [1].

Рекомендации для национальных правительств, которые помогут оптимизировать природоохранную работу по сохранению биологического разнообразия содержатся в Красных книгах. Красная книга – это официальный документ, свод сведений о редких и находящихся под угрозой исчезновения видах (подвидах, популяциях) диких животных, дикорастущих растений и грибов [2].

Одним из редких и исчезающих грибов-ксилотрофов является ежевик коралловидный (*Hericium coralloides* (Scop.)), занесенный в Красные книги г. Москвы и Московской области.

Целью работы состояла в комплексном изучении грибов как компонентов экосистем и оценке встречаемости плодовых тел *Hericium coralloides* на территории НП «Лосиный остров».

Объектом исследования явился ежевик коралловидный, его устойчивость к антропогенной нагрузке.

По Статусу редкости ежевик коралловидный относится к третьей категории – уязвимый на территории Москвы вид [3]. В соответствии с федеральными законами виды грибов, занесенные в Красную книгу г. Москвы, являются особо охраняемыми [4,5].

В период с июля по сентябрь 2023 года нами проведены исследования видового разнообразия и распространения ежевика коралловидного (*Hericium coralloides* (Scop.)) на территории Лосиноостровского и Яузского лесопарков г. Москвы. При обследовании использовали маршрутный метод [6].

Видовую идентификацию образцов проводили по стандартным определителям [7]. Актуальные названия видов в работе приведены в соответствии с базой Index Fungorum на сентябрь 2023 г.

Ежевик коралловидный по трофической специализации относится к ксилосапротрофам. Плодовое тело гриба коралловидное обильно разветвленное, с шиповатым гименофором: нижняя поверхность «ветвей» покрыта многочисленными шипами [8]. Шипы покрывают «ветви» почти до самого основания снизу и по бокам, в свежем состоянии шипы белые, при высыхании буреют (рисунок 1).



Рис. 1. *Hericium coralloides*, произрастающий на территории НП «Лосиный остров» (55.830246, 37.750790).

Hericium coralloides съедобен в молодом возрасте, но его употребление в пищу запрещено, поскольку он является охраняемым видом и произрастает внутри мегаполиса. Гриб широко используется в медицине [9, 10].

Этот вид в природе повсеместно редок и внесен в Красные книги многих регионов страны и государств, поэтому его выращивают искусственно. Гриб ксилотроф, вызывает белую гниль [11].

Плодовые тела *Hericium coralloides* (Scop.) нами обнаружены в Лосиноостровском (7 штук) и в Яузском (6 штук) лесопарках (рисунок 2).



Рис. 2. Места обнаружения плодовых тел *Hericium coralloides* (Scop.) в Лосиноостровском и Яузском лесопарках.

Первое плодовое тело найдено 13 июля 2023 г. (55.826297, 37.682905) на березовом валежнике в Яузском лесопарке (I). Последующие находки плодовых тел *Hericium coralloides* (Scop.) зафиксированы также в Яузском лесопарке 22.07. (55.832505, 37.700328 – II; 55.835232, 37.723161 – III; 55.841066, 37.688675) – IV, 29.07. (55.837250, 37.706012 – V; 55.845653, 37.704210 – VI). Грибы, идентифицированные с 19.08.2023 г., найдены в Лосиноостровском лесопарке (55.826072, 37.743895 – I; 55.830246, 37.750790 – II; 55.830539, 37.792030 – III), 03.09. (55.839764, 37.778760 – IV; 55.839911, 37.732707 – V); 11.09.2023 (55.848987, 37.746367 – VI; 55.856598, 37.733878 – VII) года. Всего обнаружено 13 плодовых тел, произрастающих на мертвых субстратах, представленных на рисунке 3.

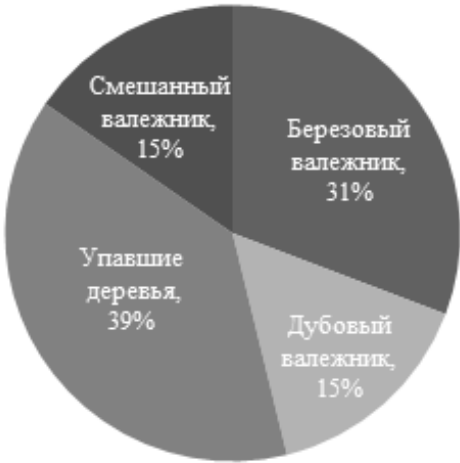


Рис. 3. Разнообразие субстратов, на которых произрастает ежовик коралловидный.

В период исследования нами выявлено, что плодовые тела *Hericium coralloides* (Scop.) чаще заселяли упавшие деревья (39%) и березовый валежник (31%).

Учитывая близость ТЭЦ-23, интенсивное движение транспорта и большую захламленность, при условии единичной встречаемости этого вида в большинстве лесопарков региона, находки ежовика в Лосиноостровском и Яузском лесопарках довольно частые. Необходимо отметить, что из 13 грибов на 25.08.2023 года уже отсутствовали 4 экземпляра.

Расширению ареала произрастания плодовых тел *Hericium coralloides* могли способствовать санитарные рубки древостоя и создание валежников в период исследования, проводимые по распоряжению дирекции НП «Лосиный остров».

Таким образом, на основании распространенности гриба можно сделать вывод, что условия, создавшиеся в парке, способствуют распространенности гриба *Hericium coralloides* (Scop.), поэтому его можно отнести к виду, восстанавливающемуся в численности.

Список литературы

1. Павлов Д.С., Стриганова Б.Р., Ббукварева Е.Н., Дребуадзе Ю.Ю. Сохранение биологического разнообразия как условие устойчивого развития. — М.: ООО «Типография Левко»; Институт устойчивого развития/ Центр экологической политики России, 2009 — 84 с.

2. Постановлению г. Москвы № 79-ПП от 19.02.2013 «О Красной книге города Москвы» (с изменениями и дополнениями) [Электронный ресурс] /. – Режим доступа: <https://base.garant.ru/70319654/?ysclid=lt2v1cqmdc52036047> (дата обращения 24.02.2024).

3. Красная книга города Москвы / Отв. ред. Н.А. Соболев; Департамент природопользования и охраны окружающей среды города Москвы. Комиссия по редким и находящимся под угрозой исчезновения в условиях города Москвы видам животных и растений. 3-е изд., перераб. и доп. М., 2022. 848 с.

4. Закон города Москвы от 30 июня 1999 года N 28 «О регулировании использования редких и исчезающих диких животных и растений на территории города Москвы» [Электронный ресурс] /. – Режим доступа: <https://base.garant.ru/372190/> (дата обращения 24.02.2024).

5. Федеральный закон от 10.01.2002 № 7-ФЗ «Об охране окружающей среды» (последняя редакция) [Электронный ресурс] /. – Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_34823/?ysclid=lt2upmgdch497711255 (дата обращения 24.02.2024).

6. Дунаев Е. А., 1999. Деревянистые растения Подмосквья в осенне-зимний период: методы экологических исследований. – М.: МГСЮН, 232 с.

7. Переведенцева Л.Г. Микология: Грибы и грибоподобные организмы / Л.Г. Переведенцева – Перм. гос. ун-т – Пермь, 2009. – 41 с.

8. Антонова Людмила Дмитриевна, Ткаченко Олег Борисович ДВА РЕДКИХ ВИДА ГРИБОВ (*HERICIUM CORALLOIDES* И *POLYPORUS UMBELLATUS*) НА ТЕРРИТОРИИ ГЛАВНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК // Бюллетень МОИП. Отдел биологический. 2019. №4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/dva-redkih-vida-gribov-hericium-coralloides-i-polyporus-umbellatus-na-territorii-glavnogo-botanicheskogo-sada-rossiyskoj-akademii> (дата обращения: 25.02.2024).

9. Сафонов М. А., Сафонова Т. И. Теоретические и практические аспекты сохранения биоразнообразия микобиоты Южного Приуралья // Вестник ОГУ. 2010. №6 (112). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/teoreticheskie-i-prakticheskie-aspekty-sohraneniya-bioraznoobraziya-mikobioty-yuzhnogo-priuralya> (дата обращения: 24.02.2024).

10. Gorbunova I.A., Perova N.B., Terlyakova N.V. Medicinal Mushrooms of Southwest Siberia // Int. J. Med. Mushrooms. 2005. Vol. 7, N 3. P. 403–404.

11. Yurchenco J.A., Warren G.H. A Laboratory Procedure for the Cultivation

12. Yurchenco J.A., Warren G.H. A Laboratory Procedure for the Cultivation and Fructification of Species of *Hericium* // Mycologia. 1961. Vol. 53. N 6. P. 566–574.

**PORODAEDALEA YAMANOI (HYMENOSCHAETACEAE, BASIDIOMYCOTA)
НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ РОССИИ**

Бухарова Н.В.

ФНИЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Владивосток

Porodaedalea yamanoi (Imazeki) Y.C. Dai – облигатный патогенный сапротроф, проявляющий узкую специализацию к древесной породе. Информация о распространении *P. yamanoi* на территории Дальнего Востока России была собрана и обобщена на основании собственных наблюдений и сборов, а также по имеющимся гербарным материалам (VLA) и литературным источникам.

В отличие от близкого вида *Porodaedalea chrysoloma* (Fr.) Fiasson et Niemelä, встречающегося также на *Picea* sp. и имеющего распростерто-отогнутые плодовые тела, *P. yamanoi* отличается толстыми сидячими плодовыми телами крупных размеров. Кроме того, *P. chrysoloma* чаще всего растет на опавших стволах деревьев и валеже, в то время как *P. yamanoi* встречается на живых деревьях *Picea* sp. [1].

В России *P. yamanoi* распространен лишь на Дальнем Востоке: в Сихотэ-Алинском заповеднике и в национальном парке «Удэгейская легенда» Приморского края [2, 3], в Большехехцирском заповеднике Хабаровского края [4] (приведен как *Phellinus jezoënsis* (Yamano) Parmasto), в заповеднике «Бастак» Еврейской автономной области [5], а также на острове Сахалин [6] (указан как *Phellinus jezoënsis*) и на Курильских островах Сахалинской области. За пределами России он известен из Центрального и Северо-Восточного Китая [1].

Изученные образцы: Приморский край, Сихотэ-Алинский заповедник, кордон Кабаний, хвойно-широколиственный лес, на хвойном дереве, собр. А.А. Кияшко, опр. И.В. Змитрович (как *Phellinus jezoënsis*), 24 VIII 2011, LE 288314; Красноармейский район, водораздел р. Валинку, ельник, на валеже *Picea* sp., собр. Н.В. Бухарова, опр. В.А. Спирин, 25 VIII 2013, VLA M-25064; национальный парк «Удэгейская легенда», кедрово-широколиственный лес, на хвойной породе, собр. Е.М. Булах, опр. Н.В. Бухарова, 16 VIII 2015, VLA M-26344; Еврейская автономная область, заповедник «Бастак», **верх. р. Икура**, хвойно-широколиственный лес, на *Picea* sp., собр. и опр. Н.В. Бухарова, 23 VIII 2010, VLA M-22511, VLA M-22511; подн. г. Чернуха, хвойно-широколиственный лес, на су-

хом стволе *Picea* sp., собр. и опр. Н.В. Бухарова, 26 VII 2011, VLA M-23571; Сахалинская область, о. Кунашир, заповедник «Курильский», ельник зеленомошный, на сухом стволе *Picea* sp., собр. Е.М. Булах, опр. Н.В. Бухарова, 27 VIII 2016, VLA M-25219; о. Сахалин, п-ов Крильон, залив Анива, пихтово-еловый лес, на живом стволе *Picea* sp., собр. и опр. Н.В. Бухарова, 10 VIII 2023, VLA M-28325.

Таким образом, к настоящему времени на российском Дальнем Востоке известно восемь точек местонахождения *P. yamanoi*, семь из которых подтверждены гербарным материалом из Фондового микологического гербария ФНИЦ Биоразнообразия ДВО РАН (VLA, г. Владивосток).

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 124012400285-7) при финансовой поддержке Некоммерческого благотворительного фонда «Поддержка биологических исследований» (проект № 1/2023-гр).

Список литературы

1. Dai Y.C. 2010. Hymenochaetaceae (Basidiomycota) in China. Fungal Diversity 45: 131-343.
2. Булах Е.М., Бухарова Н.В., Малышева В.Ф., Малышева Е.Ф., Ребриев Ю.А., Светашева Т.Ю. Базидиальные грибы // Растения, грибы и лишайники Сихотэ-Алинского заповедника / Отв. ред. Пименова Е.А. Владивосток: Дальнаука, 2016. С. 393–457.
3. Богачева А.В., Булах Е.М., Бутовец Г.Н. и соавт. Биота и почвы национального парка «Удэгейская легенда». Владивосток: Дальнаука, 2020. 284 с.
4. Азбукина З.М., Булах Е.М., Пармasto Э.Х. и соавт. Грибы // Флора и растительность Большехехцирского заповедника (Хабаровский край). Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1986. С. 30–70.
5. Бухарова Н.В., Змитрович И.В. Афилофороидные грибы заповедника «Бастак» // Микология и фитопатология. 2014. Т. 48. Вып. 6. С. 343–354.
6. Бондарцева М.А., Пармasto Э.Х. Определитель грибов СССР: Порядок афилофоровые. Вып. 1. Л.: Наука, 1986. 192 с.

**ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ ЛИСТЬЕВ ДЕРЕВЬЕВ И КУСТАРНИКОВ
В БОТАНИЧЕСКОМ САДУ ЮЖНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА
(Г. РОСТОВ-НА-ДОНУ): ИТОГИ МНОГОЛЕТНЕГО ИЗУЧЕНИЯ РАЗНООБРАЗИЯ**

Булгаков Т.С.

Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук», Сочи

Коллекции растений в ботанических садах являются своеобразными «полигонами», где имеется возможность изучать приспособленность растений-интродуцентов не только к абиотическим факторам среды (климатическим и почвенным условиям) [1], но и оценить воздействие на них негативных биологических факторов. Среди них существенную роль играют болезни растений, вызванные фитопатогенными организмами, среди которых по общему числу и значению преобладают фитопатогенные грибы. По данной причине в ботанических садах удобно вести изучение характерных

для региона фитопатогенов, их эколого-биологических особенностей и взаимоотношений с растениями-хозяевами.

Ботанический сад Южного федерального университета (БС ЮФУ) является крупнейшим центром интродукции древесных растений в степной зоне европейской части России. На протяжении почти столетия (с 1920-х гг.) здесь было испытано более 1000 видов деревьев и кустарников на предмет их жизнеспособности в условиях степной зоны и возможности использования в местном садоводстве и озеленении [1, 2]. Кроме

того, БС ЮФУ является уникальной территорией, сочетающей в себе черты классического ботанического сада и особо охраняемой природной территории федерального значения, притом расположенной внутри крупной городской агломерации Ростова-на-Дону [1].

Почти за столетие значительная часть территории БС была распахана и преобразована, однако здесь сохранились и фрагменты естественной растительности. С другой стороны, на ряде участков произошло формирование растительных сообществ, во многом схожих с характерными для Нижнего Дона пойменными (нижний дендропарк) и байрачными лесами (верхний дендропарк, лесополосы) и зарослями кустарников (пойма р. Темерник, систематический дендрарий, участки вблизи коллекций растений и дач); однако сформировавшиеся на территории БС ЮФУ сообщества с участием деревьев и кустарников отличаются присутствием множества чужеродных для региона растений, среди которых имеется немало и инвазионных видов [3].

Естественно, что интродукция множества видов растений неизбежно привела к непреднамеренному заносу ассоциированных с ними фитопатогенов, особенно грибов-микромикотомов, среди которых есть немало экзотических и малоизученных видов. Несмотря на довольно продолжительную историю микологических и фитопатологических исследований в БС ЮФУ (с середины XX века) [4], здесь не проводилось специального изучения фитопатогенов деревьев и кустарников. Систематическое изучение фитопатогенных грибов и грибоподобных организмов в БС было начато лишь с 2004 г., и с тех пор оно проводится в рамках изучения всех грибов и грибоподобных организмов, ассоциированных с растениями в Ростовской области и на юге России [4]. Однако данные об общем разнообразии и биолого-экологических особенностях грибов и грибоподобных организмов, поражающих деревья и кустарники в БС ЮФУ, не были сведены воедино вплоть до 2020 г., когда был опубликован первый сводный аннотированный список всех фитопатогенных грибов, обнаруженных в БС на древесных растениях сем. Rosaceae [5], а позже – список облигатно-паразитических грибов, поражающих древесные растения [6] и аннотированные списки микромикотомов, вызывающих некрозы (пятнистости, паршу, ожог) листьев и других неодревесневающих частей деревьев и кустарников [7, 8].

Довольно многочисленной – 80 видов – оказалась группа облигатных паразитов, поражающих листья и неодревесневающие части деревьев и кустарников [6]. Внутри неё по общему числу видов преобладали аскомицеты (отдел Ascomycota, 48 видов), представленные мучнисторосяными грибами (Leotiomycetes, Helotiales, Erysiphaceae) – 38 видов и тафриновыми грибами (Taphrinomycetes, Taphrinales, Taphrinaceae) – 10 видов. Второй по численности группой оказались базидиальные грибы (отдел Basidiomycota, 30 видов), представленные ржавчинными (Pucciniomycetes, Pucciniales) – 28 видов и микростромовыми грибами (Exobasidiomycetes, Microstromatales, Microstromataceae) – 2 вида [6]. Грибоподобные организмы (Chromista) среди облигатных паразитов на листьях деревьев и кустарников были представлены только двумя видами отдела Oomycota – *Peronospora sparsa* и *Plasmopara viticola* [6].

Значительно более крупной группой оказались грибы-факультативные паразиты деревьев и кустарников, вызывающие различные некрозы листьев и других неодревесневающих частей деревьев и кустарников – паршу, ожоги и различные пятнистости. В отличие от об-

лигатных паразитов, эта группа оказалась представлена исключительно аскомицетами (Ascomycota) из трёх наиболее крупных классов этого отдела царства Грибы [7, 8].

Наиболее многочисленным был класс Dothideomycetes, представленный 102 видами и 7 разновидностями грибов из 49 родов, 16 семейств и 7 порядков [7]. Среди выявленных грибов по общему числу видов преобладали представители порядка Mycosphaerellales с крупнейшим семейством Mycosphaerellaceae (49 видов). Вторым по численности был порядок Pleosporales, представленный 26 видами и 5 разновидностями. В сумме два крупнейших порядка включали почти три четверти всех видов класса (75 из 102 видов), тогда как остальные пять порядков представлены только 27 видами [7].

Два остальных класса отдела Ascomycota оказались представлены существенно меньшим числом видов: класс Sordariomycetes – 37 видами, а класс Leotiomycetes – лишь 17 видами (однако следует учесть, что к нему относятся 38 видов мучнисторосяных грибов из числа облигатных паразитов растений). Таксономическое положение в классе Ascomycota для ещё девяти видов остаётся неясным [8].

По общему числу видов в классе Leotiomycetes крупнейшим оказался порядок Helotiales, представленный 6 родами и 15 видами. В классе Sordariomycetes по числу видов лидировал порядок Diaporthales, представленный 8 родами и 17 видами. В сумме эти два крупнейших порядка включали больше половины всех видов этих двух классов и почти половину всех родов, тогда как остальные порядки были представлены менее чем 10 видами и 1–3 родами [8]. Крупнейшим семейством среди Leotiomycetes оказалось Drepanopezizaceae (10 видов), а среди Sordariomycetes – Gnomoniaceae (9 видов), Glomerellaceae (7 видов) и Diaporthaceae (6 видов); остальные семейства были представлены не более чем пятью видами из одного-двух родов. Наиболее многочисленными были роды *Colletotrichum* (7 видов) и *Drepanopeziza* (6 видов), *Apiognomonia* и *Diaporthe* (по 4 вида); остальные роды оказались представлены тремя и менее видами [8].

Впервые в БС ЮФУ отмечены 109 видов, впервые Ростовской области – 48 видов, и впервые в России – 29 видов. Из числа облигатно-паразитических грибов впервые в БС ЮФУ отмечены 24 вида, впервые в Ростовской области – ещё 7 видов, а один вид (*Erysiphe symphoricarpi*) – впервые найден в России.

Из представителей Dothideomycetes 21 вид впервые найден в БС ЮФУ, 24 вида – впервые в Ростовской области и 14 видов – впервые отмечены в России. Из них 8 видов ранее были описаны из Ростовской области как новые для науки: *Aceruloseptoria fraxini*, *Asteromella staphyleicola*, *Cercospora exochordicola*, *Coniothyrium yuccicola*, *Paramacroventuria ribis*, *Phaeosphaeriopsis yuccae*, *Sphaerulina neoaceris* и *S. salicicola* (*Asteromella staphyleicola* и *Cercospora exochordicola* до сих пор известны только из БС ЮФУ) [7].

Среди представителей классов Leotiomycetes и Sordariomycetes было выявлено значительное число видов, которые ранее не отмечались в БС ЮФУ, Ростовской области и даже в России. Так, впервые в БС ЮФУ были найдены 27 видов грибов, ещё 20 видов – впервые в Ростовской области и 7 видов – впервые в России: *Monilinia johnsonii*, *Phomopsis* cf. *rhodotypi*, *Polystigma halimodendri*, *Rhodosticta coluteae*, *Diaporthe asheicola*, *Sporocadus cotini* и *S. sorbi*; при этом три последних вида рассматриваются как новые по итогам ревизий ранее уже известных видов.

Ещё 6 видов принадлежат к числу ранее описанных из Ростовской области как новые для науки: *Colletotrichum insertae*, *C. menispermii*, *C. parthenocissicola*, *C. quinquefoliae*, *Lectera sambuci* и *Seimatosporium physocarpii* [8].

Более половины всех выявленных видов (53%) оказались чужеродными для Ростовской области – они ассоциированы с интродуцированными растениями и не встречаются на аборигенных для Ростовской области деревьях и кустарниках.

Публикация подготовлена в рамках реализации государственного задания ФИЦ СЦ РАН FGRW-2022-0006, № госрегистрации 122042600092-8.

Список литературы

1. Коллекции растений Ботанического сада ЮФУ: каталог растений, прошедших интродукционное испытание: монография / Под ред. В.В. Федяевой. Ростов-на-Дону: Изд-во Южного федерального университета, 2014. 367 с.
2. Козловский Б.Л., Куропятников М.В., Федоринова О.И. Результаты интродукции древесных растений // Ботанический сад Южного федерального университета – центр сохранения биологического разнообразия растений степной зоны: монография. Ростов-на-Дону; Таганрог: Издательство Южного федерального университета, 2023. С. 12–24.
3. Козловский Б.Л., Федоринова О.И., Куропятников М.В. Адвентивные виды древесных растений флоры Ботанического сада ЮФУ // Труды Ботанического сада Южного федерального университета: Выпуск 1: монография / Под ред. Т.В. Вардуни. Ростов-на-Дону: Изд-во Южного федерального университета, 2016. С. 97–115.
4. Русанов В.А., Булгаков Т.С., Ребриев Ю.А. Микобиота Ботанического сада ЮФУ: история изучения и современные сведения // Роль ботанических садов в сохранении и мониторинге

биоразнообразия: Сборник материалов международной научной конференции (г. Ростов-на-Дону, Южный федеральный университет, 27–30 мая 2015 г.). Ростов-на-Дону: Изд-во Южного федерального университета, 2015. С. 123–126.

5. Булгаков Т.С. Микобиота древесных растений семейства Rosaceae Juss. в Ботаническом саду Южного Федерального университета // Труды Южного Федерального университета. Вып. 5: сборник научных трудов. Ростов-на-Дону-Таганрог; Изд-во Южного Федерального университета, 2020б. С. 85–154.
6. 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.
7. Булгаков Т.С. Грибы класса Dothideomycetes (Ascomycota), вызывающие болезни листьев древесных и древовидных растений в Ботаническом саду Южного федерального университета // Труды Ботанического сада Южного Федерального университета: сборник научных трудов. Вып. 7. Ростов-на-Дону-Таганрог: Изд-во Южного Федерального университета, 2022. С. 92–161.
8. Булгаков Т.С. Грибы классов Leotiomycetes и Sordariomycetes (Ascomycota), вызывающие болезни листьев древесных растений в Ботаническом саду Южного федерального университета // Труды Ботанического сада Южного Федерального университета: сборник научных трудов. Вып. 8. Ростов-на-Дону-Таганрог: Изд-во Южного Федерального университета, 2023 (в печати).

СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ ПИКНИДИАЛЬНЫХ СЕПТОРИОПОДОБНЫХ МИКРОМИЦЕТОВ В БЕЛАРУСИ

Федюшко И.А.

Белорусский государственный университет, Минск

Пикнидиальные септориоподобные микромицеты в широком смысле являются одной из многочисленных, по числу видов и родов, морфологических групп, которые образуют конидиомы с митоспорами по типу сколекоконидий, а также нитевидно-цилиндрических, фрагмо-, дидимо- и даже армероконидий. Из-за чего долгое время эти микромицеты описывали как виды из р. *Septoria* Sacc. s.l. В биоценозах представлены паразитами дикорастущих и культивируемых растений, а также сапротрофами [1, 2].

Они распространены на всех континентах, на разнообразных растительных субстратах [3–6], нередко вызывают опасные заболевания растений и постоянно находятся в поле зрения специалистов разного профиля [3, 7, 8] – прежде всего, фитопатологов. Кроме того, ряд являются чужеродными для микобиоты нашей страны [7–9] и могут представлять угрозу устоявшимся, редким, охраняемым фитоценозам Беларуси.

Некоторые из них используются одновременно как продуценты ценных БАВ [10], которые применяются для контроля сорных растений в агрофитоценозах, а также защиты культур от фитопатогенных микроорганизмов [11].

Данная морфологическая группа грибов является сложной и гетерогенной, как в морфологическом, так и в филогенетическом плане. В свое время группой микологов был представлен обзор родов, соответствующих пикнидиальным септориоподобным грибам [2]. Кроме того множество таксонов родового ранга были описаны совсем недавно путем молекулярной ревизии р. *Septoria* s.l. Некоторые описаны как новые для науки в рамках изучения микобиоты мира [12].

В связи с этим среди множества целомицетов, опираясь исключительно на морфологию группы, к пикнидиальным септориоподобным микромицетам в настоящее время можно отнести следующие таксоны:

- класс Sordariomycetes: *Stenocarpella*;
- класс Dothideomycetes: *Haudseptoria*, *Kellermania*, *Piptarthron*, *Umthunziomyces* *Cylindroseptoria*, *Pseudoseptoria*, *Acervuloseptoria*, *Caryophylloseptoria*, *Hippopotamycetes*, *Neokamalomyces*, *Neoseptoria*, *Nothoseptoria*, *Polyphialoseptoria*, *Rhabdospora*, *Ruptoseptoria*, *Septoria*, *Sphaerulina*, *Stromatoseptoria*, *Zymoseptoria*, *Xenosonderhenia*, *Neostagonospora*, *Parastagonospora*, *Phaeosphaeria* (syn. *Phaeoseptoria*), *Sclerostagonospora*, *Vrystaatia*,

Xenoseptoria, *Stagonospora*, *Paraleptosphaeria* (syn. *Acicuseptoria*), *Longiseptatispora*, *Setoseptoria*, *Keissleriella*;
– класс Leotiomycetes: *Megaloseptoria*, *Phacidiella*, *Sphaerographium*, *Topospora*;
– класс Lecanoromycetes: *Eriospora*, *Fitzroyomyces*;
– Ascomycota Class Incertae sedis: *Aristastoma*, *Ceratopycnis*, *Chaetoseptoria*, *Cytostagonospora*, *Dearnessia*, *Jahniella*, *Trichoseptoria*.

В мировой науке пикнидиальными септориоподобными микромицетами занимались в разное время множество микологов: Saccardo P.A., Spegazzini C.L., Fries T.M., Montagne C., Höhnelt R.F., Berkeley M.J., Broome C.E., Tehon L.R., Bubák Fr., Cavara Fr., Petrak Fr., Наймов Н.А. Crous P.W., Barreto R.W., Hou L.W., Quaedyvlieg W., Schumacher R.K., Shin H.D., Swart W.J., Verkley G.J.M., Булгаков Т.С., Sanjay Y., Singh R. Sutton B.C. [1, 2, 6, 12].

В СССР изучением этой группы занимались ряд специалистов, которые писали микофлоры разных регионов огромной страны: Мельник В.А. [13], Тетеревникова-Бабаян Д.Н. [3], Марланд А.Г. [5], Морочковский С.Ф. и др. [14], Бызова З.М. и др. [4].

Целенаправленным комплексным изучением пикнидиальных септориоподобных микромицетов в Беларуси не занимались вовсе. Об этом свидетельствуют многочисленные сводки о разнообразии грибов и грибоподобных организмов, доступные нам для анализа, начиная с конца XIX в.

Пикнидиальные септориоподобных микромицетов приводятся в работах Katory A., Дорогина Г.Н., Шембеля С.Ю., Лебедевой Л.А., Медзиша М.Н., Тупеневича С.М., Tumiłowicz Z., Бондарцевой-Монтеверде В.Н., Василевского Н.И., Каракулина Б.П., Купревича В.Ф., Райлло А.И., Тупеневича С.М., Дорожкина Н.А., Нитиевской В.И., Чекалинской Н.И., Бельской С.И., Горленко С.В., Панько Н.А. [15]; Беломесяцовой Д.Б., Гапиенко О.С., Кобзарь Н.Н., Кордияко Н.Г., Кориньяк С.И. Шабашовой Т.Г., Шапаровой Я.А., Юрченко Е.О., Склименок Н.А. [8, 16–18]; Гириловича И.С., Джуса М.А., Лемезы Н.А., Поликсеновой В.Д., Сидоровой С.Г., Стадниченко М.А., Федорович М.Н., Храмцова А.К. [7, 9, 17, 19–23].

Кроме того некоторые виды пикнидиальных септориоподобных грибов, собранных на территории Беларуси, упоминаются в работах Бызовой З.М., Васягиной М.П., Деевой Н.Г., Калымбетовой Б.К., Писаревой Н.Ф., Шварцман С.Р. [4], Тетеревниковой-Бабаян Д.Н. [3].

Анализ изученной литературы, а также материалов, которые хранятся в Гербарии БГУ (MSKU) показал, что на территории Беларуси в период с 1912 по 2023 годы было зарегистрировано 236 видов пикнидиальных септориоподобных микромицетов из рр. *Septoria* s.l., *Stagonospora*, *Caryophylloseptoria*, *Rhabdospora*. Для некоторых видов были обнаружены также телеоморфы из р. *Mycosphaerella* и *Sphaerulina*.

Составленный нами список пикнидиальных септориоподобных грибов ляжет в основу изучения видового разнообразия данной группы микромицетов на территории Беларуси. При этом стоит полагать, что в ближайшее время будут описаны новые таксоны, которые можно будет включить в список пикнидиальных септориоподобных микромицетов.

Список литературы

- Verkley G.J., Quaedyvlieg W., Shin H.D., Crous P.W. A new approach to species delimitation in *Septoria*. *Stud Mycol.* 2013 Jun 30; 75(1):213–305. doi: 10.3114/sim0018. PMID: 24014901; PMCID: PMC3713889.
- Quaedyvlieg W., Verkley G.J., Shin H.D., Barreto R.W., Alfenas A.C., Swart W.J. “et al.” Sizing up *Septoria*. *Stud Mycol.* 2013 Jun

30; 75(1):307–90. doi: 10.3114/sim0017. PMID: 24014902; PMCID: PMC3713890.

- Тетеревникова-Бабаян Д.Н. Грибы рода *Septoria* в СССР. Ереван, АН АрмССР, 1987 г.
- Бызова З.М., Васягина М.П., Деева Н.Г., Калымбетов Б.К., Писарева Н.Ф., Шварцман С.Р. Флора споровых растений Казахстана. Несовершенные грибы – Fungi несовершенные (Deuteromycetes). 3. Sphaeropsidales, В. 5. Алматы, Академия наук Казахской ССР. «Наука» Казахская ССР, 1970 г.
- Марланд А.Г. Критический обзор рода *Septoria* применительно к флоре Эстонии. Тарту: Научная литература, 1948.
- Sutton B.C. The Coelomycetes Fungi Imperfecti with Pycnidia Acervuli and Stromata. England, Commonwealth Mycological Institute, Kew, 1980.
- Поликсенова В.Д., Храмцов А.К. Чужеродные фитопатогенные микромицеты Беларуси. *Вестник БГУ.* 2015. Т. 3 (2). С. 43–48.
- Беломесяцева Д.Б., Звягинцев В.Б., Шабашова Т.Г., Пинчук А.Г. Инвазионные и карантинные дендропатогены на территории Белорусского Полесья. *Ботаника (исследования).* 2022. Т. 43. С. 146–153.
- Храмцов А.К., Поликсенова В.Д., Федюшко И.А., Сидорова С.Г., Гирилович И.С., Лемеза Н.А. Чужеродные для Беларуси фитопатогенные микромицеты на некоторых полезных растениях. *Ботаника (исследования).* 2023. Т. 52. С. 203–194.
- Xu D, Xue M, Shen Z, Jia X, Hou X, Lai D. “et al.” Phytotoxic Secondary Metabolites from Fungi. *Toxins (Basel).* 2021 Apr 6; 13(4):261. doi: 10.3390/toxins13040261. PMID: 33917534; PMCID: PMC8067579.
- Boss D., Maurhofer M, Schläpfer E, Défago G. Elsinochrome A production by the bindweed biocontrol fungus *Stagonospora convolvuli* LA39 does not pose a risk to the environment or the consumer of treated crops. *FEMS Microbiol Ecol.* 2007 Jan; 59(1):194–205. doi: 10.1111/j.1574-6941.2006.00207.x. Epub 2006 Nov 9. PMID: 17092310.
- COELOMYCETES [Electronic resource] // COELOMYCETES URL: <https://www.coelomycetes.org/> (date of access: 10.03.2024).
- Мельник В.А. Класс Целомицеты. Определитель русских грибов: т. 1 (редкие и малоизвестные роды) СПб., Наука, 1997.
- Морочковский С.Ф., Радзеевский Г.Г., Зерова М.Я., Дудка И.О., Смицкая М.Ф., Роженько Г.Л. ОГУ. V.3 Несовершенные грибы. Киев, Наукова думка, 1971.
- Yurchenko E.O. (2008). History of taxonomic mycology in Belarus: A bibliographic survey. 27 HTML pages, 52 illustrations. <<http://www.cybertruffle.org.uk/belmycol>> This web publication first posted 31 August 2007, last modified 3 April 2008. Web-design: E.O. Yurchenko.
- Гапиенко О.С., Беломесяцева Д.Б., Кобзарь Н.Н., Кордияко Н.Г., Кориньяк С.И., Шабашова Т.Г. «и др.» Макромицеты, микромицеты и лихенизированные грибы Беларуси. Гербарий Института экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревич (МСК-Ф, МСК-Л). Минск: ИВЦ Минфина, 2006.
- Кориньяк С.И. Атлас болезней культурных лекарственных растений, вызываемых анаморфными грибами. Минск: Беларусь, наука, 2010.
- Кориньяк С.И. Целомицеты – возбудители болезней растений на территории национального парка «Беловежская пуща». *Ботаника (исследования).* 2017. Т. 46. С. 174–183.
- Джус М. А., Гирилович И. С. Флора и микобиота Воложинского района Минской области [Электронный ресурс]. Минск: БГУ, 2014.

20. Гирилович И.С., Джус М.А. Памятник природы республиканского значения «Дубрава»: пособие: для студентов-биологов. фак. Минск: БГУ, 2009.

21. Храмцов А.К. Фитопатогенные микромицеты. Краткое руководство по сбору и идентификации: пособие. Минск, БГУ, 2020.

22. Поликсенова В.Д., Храмцов А.К., Гирилович И.С., Лемеза Н.А., Сидорова С.Г., Стадниченко М.А. Фитопатогенные микромицеты на чужеродных растениях из издания «Черная книга флоры Беларуси: Чужеродные вредные растения». Журнал БГУ. Биология. Т. 3., Минск, 2021, С. 78–87.

23. Поликсенова В.Д., Храмцов А.К., Лемеза Н.А., Сидорова С.Г., Стадниченко М.А. Чужеродные для Беларуси микромицеты – паразиты растений, используемых в зеленом строительстве. В сб.: Состояние и перспективы развития зеленого строительства в Республике Беларусь. Тезисы республиканского научно-практического семинара (26–27 апреля 2018 г.). Минск, 2018. С. 149–152.

БАРКОДИНГ КОЛЕКЦИИ ФУНГАРИЯ ЮГОРСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

Филиппова, Н.В.

Югорский государственный университет, Ханты-Мансийск

Коллекция грибов Югорского государственного университета (Фунгарий ЮГУ) представляет разнообразие грибов севера Западной Сибири (<https://fungariumysu.org/fungarium/>). Коллекция создавалась сотрудниками вуза и коллегами из других организаций с 2010 года. В настоящее время в фонде хранения около 11500 образцов, представляющих более 1500 видов из 460 родов и 15 семейств. Большая часть представляют базидиомицеты (86%). В географическом охвате коллекции преобладает Ханты-Мансийский Автономный Округ (94% образцов), меньшим числом представлены другие 11 регионов России. На основе коллекции выполнено около 50 работ по ревизии микобиоты региона, описанию новых находок и описанию новых видов, а также экологии сообществ грибов и работ природоохранного содержания, в том числе изданий Красной Книги ХМА-О-Югры. Коллекция содержит 5 типовых образцов: 1 голотип, 1 изотип и 3 паратипа. Около двух третей коллекции определено до вида, остальная часть определена до рода и представляет собой полевое определение, еще требующее дополнительной работы.

С 2022 года начата работа по баркодингу коллекции Фунгария ЮГУ с целью получить сиквенсы ДНК для большей части определенных до вида таксонов коллекции. Под баркодингом мы понимаем секвенирование определенного региона ДНК всех образцов коллекции с публикацией сиквентов в базе данных коллекции и/или на открытых порталах (GenBank, GBIF) [1, 2]. Задачей является получение сиквентов и их депонирование в базе данных без сопутствующего молекулярно-генетического анализа, или в минимальном объеме. Таким образом, это в целом техническая работа, требующая компетенций в области протоколов секвенирования по Сэнгеру, выполняемая в рутинном режиме лаборантами. Конечным результатом работы являются полученные сиквенсы, обработанные и загруженные в базы данных, и их метаданные, отраженные в лабораторных журналах. Баркодинг в этом смысле – это своеобразное первичное сканирование коллекции, позволяющее выявить потенциально новые таксоны, подтвердить или опровергнуть классическую идентификацию, и присвоить образцу стабильный объективный признак (баркод).

Актуальность баркодинга коллекций заключается в создании дополнительного признака (региона ДНК) для повышения точности определения, что значительно экономит время и повышает качество работы по идентификации во время будущей ревизии группы. Вторым

важным аспектом является обнаружимость образцов коллекции машинным способом (поиском образцов в BLAST NCBI), в результате которого коллекции будут быстрее вовлечены в экспертную работу разными специалистами по всему миру. Баркодинг широко практикуется в крупных мировых коллекциях, особенно коллекциях типовых образцов. Для малых коллекций, где часто встречается недостаточная экспертиза образцов, тотальный баркодинг может иметь второстепенную роль. Однако, он остается актуальным и может применяться в определенных масштабах.

Нами был принят следующий подход к организации баркодинга коллекции Фунгария ЮГУ:

Выбор образцов для баркодинга осуществляется следующим образом. В работу вовлекаются последовательно отдельные рода грибов, от более разнообразных в регионе к менее значимым. В пределах рода, сначала отбираются образцы, определенные ранее до вида и предпочтительно ранее опубликованные. Для каждого вида отбирается 1-5 образцов для секвенирования, в зависимости от его таксономической сложности.

Секвенированием на рутинной основе занимается 1-2 лаборанта. Средняя скорость секвенирования – 50 образцов в неделю, что совпадает с необходимостью регулярного запуска секвенатора AB 3500 (в малом учреждении, где на секвенаторе работает одна лаборатория, регулярный запуск прибора может представлять проблему из-за недостатка материала).

Для фиксации параметров секвенирования, сохранения метаданных и истории запусков, создана база данных в гугл-таблицах, где данные вносятся в 7 таблиц и около 50 полей (лабораторный журнал, ЖурЛаб). ЖурЛаб позволяет вести учет расхода реактивов, отслеживать ответственных лиц, анализировать успешность прохождения этапов в связи с разными параметрами, и структурированно хранить полученные данные. В последнем листе таблицы «анализ сиквентов» загружаются готовые отредактированные последовательности, записывается оценка их качества по принятой шкале, результат предварительного поиска ближайших последовательностей в NCBI BLAST и определения таксона по сходству. В отдельных листах ведется запись мероприятий по обслуживанию секвенатора и структура мест хранения ДНК в морозильных камерах.

Полученные сиквенсы в сыром формате, их метаданные и отредактированные последовательности сохраняются в ИС коллекции в программном продукте «Specify 7». Информация о сиквенсах хранится в трех

основных таблицах. Сиквенсы привязаны к образцам коллекции, из которых они были получены. В системе созданы шаблоны для экспорта сиквенсов пакетным образом на порталы данных GenBank и GBIF.

Большая часть полученных сиквенсов публикуется на порталах открытых молекулярных данных GenBank и GBIF. В случае, если образец не был определен до вида, сиквенс публикуется с родовым эпитетом. Часть сиквенсов публикуется в GenBank закрыто до момента публикации в печати соответствующей статьи. Однако, в GBIF выгружаются все сиквенсы, полученные в ходе баркодинга. Здесь организована система двух связанных таблиц, где сиквенс с его метаданными связывается с соответствующим образцом коллекции (<https://doi.org/10.15468/g4bk6h>) [3]. Лист с сиквенсами содержит следующие поля: Target marker, Gene sequence, Primer reference citation, Forward primer name, Forward primer sequence, Reverse primer name, Reverse primer sequence.

В настоящий момент в ходе реализации проекта получены следующие цифры: всего этап выделения ДНК прошли около 2000 пробирок (включая повторности в случае отрицательного результата ПЦР). В итоге получены около 1200 сиквенсов для 1000 образцов коллекции. Из них около 200 последовательностей имеют ближайшее сходство с сиквенсами типовых образцов. В GenBank опубликовано в открытом доступе 270 сиквенсов. В GBIF опубликованы 550 сиквенсов. Остальные сиквенсы находятся в стадии подготовки к публикации.

Таксономическая структура отсекарированных образцов представлена 10 родами, большую часть родом *Cortinarius* (30%), затем экологическая группа макроми-

цетов верховых болот (25%), род *Lepiota* (8%), гастероидные базидиомицеты (7%) и другие.

В результате анализов полученных сиквенсов, в ходе реализации проекта опубликованы работы разного характера: ревизия видового разнообразия сообщества на основе баркодинга [4]; описание новых таксонов; подтверждение новых региональных и национальных находок; подтверждение находок охраняемых видов.

Список литературы

1. Xu J. 2016. Fungal DNA barcoding. *Genome* 59 (11): 913–32. <https://doi.org/10.1139/gen-2016-0046@gen-iblf.issue01>
2. Yahr R., Schoch C.L., Dentinger B.T. 2016. Scaling up discovery of hidden diversity in fungi: impacts of barcoding approaches. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 371 (1702): 20150336. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0336>
3. Filippova N. 2024. The Fungarium of Yugra State University. Version 1.130. Yugra State University Biological Collection (YSU BC). Occurrence dataset. <https://doi.org/10.15468/g4bk6h>
4. Filippova N., Zvyagina E., Rudykina E., Dobrynina A., Bolshakov S. 2023. The diversity of macromycetes in peatlands: nine years of plot-based monitoring and barcoding in the raised bog «Mukhrino», West Siberia. *Biodiversity Data Journal* 11: e105111. <https://doi.org/10.3897/BDJ.11.e105111>

УТОЧНЕННЫЕ СВЕДЕНИЯ О МИКОБИОТЕ ХВОИ И ПОБЕГОВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Головченко Л.А.¹, Пантелеев С.В.², Дишук Н.Г.¹, Константинов А.В.²,
Падутов А.В.², Кобзарь-Шпиганович А.В.¹

¹ Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск

² Институт леса НАН Беларуси, Гомель

В Республике Беларусь одной из главных лесообразующих пород является сосна обыкновенная. Среди хвойных пород сосна в значительной мере подвержена инфекционным болезням, большинство из которых давно известны, и в определенной степени изучены [1]. Однако в нашей стране микобиота хвои и побегов сосны исследована слабо, а сами исследования носят отрывочный характер. Интерес к этой теме в Беларуси и в сопредельных странах заметно возрос в последние десятилетия в связи с проникновением и распространением в сосновых насаждениях инвазивных фитопатогенов, а также возрастанием встречаемости и вредоносности ранее малоизвестных возбудителей болезней. Некоторые из них уже успели адаптироваться к местным климатическим условиям и наносят существенный вред сосне, вызывая преждевременное опадение хвои, усыхание отдельных их частей и даже гибель растений [2-7]. Учитывая прогрессирующее распространение инвазивных фитопатогенов, способных вызывать гибель лесов, в сопредельных с Беларусью странах, целенаправленное изучение видового состава микобиоты хвои и побегов сосны обыкновенной в разных типах насаждений Беларуси имеет важное хозяйственное значение.

В период 2021-2023 гг. сотрудниками лаборатории защиты растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси проведено рекогносцировочное фитопатологическое обследование сосны обыкновенной (в возрасте от 3 до 25 лет, отдельные деревья в возрасте более 30 лет) в естественных и искусственных насаждениях (питомники; лесные культуры; участки естественного возобновления сосны на вырубках, под пологом материнских древостоев, на пустырях и т.п.; коллекционные фонды ботанических садов; городские насаждения). В целом, образцы собраны в 128 пунктах, в том числе в 6 лесхозах Брестской области (20 лесничеств), 6 лесхозах Витебской области (8 лесничеств), 6 лесхозах Гомельской области (10 лесничеств), 7 лесхозах Гродненской области (11 лесничеств), 15 лесхозах Минской области (26 лесничеств), 10 лесхозах Могилевской области (18 лесничеств), а также в насаждениях сосны обыкновенной ГПУ «Национальный парк «Нарочанский», г. Бреста, Центрального ботанического сада НАН Беларуси (г. Минск). 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) [6, 7]. Интерпретация результатов секвенирования проводилась в базе данных NCBI (США). В данной работе приведены краткие результаты проведенного обследования.

В результате обработки собранного микологического материала, на хвое, побегах сосны обыкновенной выявлены представители 40 родов микромицетов, которые принадлежали к 31 семейству, 17 порядкам, 9 классам, 2 отделам. Доминировали представители отдела Ascomycota (47 видов), из представителей отдела Basidiomycota выявлено 4 вида грибов. Наиболее широко представлен класс Dothideomycetes: *Dothistroma septosporum* (Dorogin) M. Morelet., *Lecanosticta acicola* (Thüm.) Syd., *Neocatenulostroma* sp., *Neocatenulostroma germanicum* (Crous & U. Braun) Quaedvl. & Crous, *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko & B. Sutton., *Diplodia seriata* De Not., *Sydowia polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll., *Aureobasidium pullulans* (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud., *Capnodium* sp., *Leptoxylum fumago* (Woron.) Crous, *Cladosporium* sp., *Cladosporium ramotenellum* K. Schub., Zalar, Crous & U. Braun, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries, *Alternaria* sp., *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Alternaria infectoria* E.G. Simmons, *Epicoccum* sp., *Epicoccum nigrum* Link., *Microsphaeropsis olivacea* (Bonord.) Höhn., *Phoma* sp., *Paraphaeosphaeria* sp., *Paraphaeosphaeria sporulosa* (W. Gams & Domsch) Verkley, Göker & Stielow., *Lophiostoma corticola* (Fuckel) E.C.Y. Liew, Aptroot & K.D. Hyde, *Herpotrichia* sp., *Neostagonospora caricis* Quaedvl., Verkley & Crous., *Phaeosphaeria* sp.

Класс Sordariomycetes представлен 10 видами: *Truncatella hartigii* (Tubef) Steyaert, *Pestalotiopsis funerea* (Desm.) Steyaert, *Diaporthe* sp., *Geosmithia* sp., *Gliomastix* sp., *Fusarium* sp., *Fusarium lateritium* Nees, *Trichoderma hamatum* (Bonord.) Bainier, *Clonostachys rosea* (Link) Schroers, Samuels, Seifert & W. Gams, *Pleurophoma* sp.

Класс Leotiomycetes представлен 8 видами микромицетов: *Cyclaneusma minus* (Butin) DiCosmo, Peredo & Minter, *Gremmeniella abietina* (Lagerb.) M. Morelet, *Phialocephala fortinii* C.J.K. Wang & H.E. Wilcox., *Cenangium ferruginosum* Fr., *Infundichalara* sp., *Lophodermium conigenum* (Brunaud) Hiliter., *Lophodermium pinastri* (Schrud.) Chevall., *Lophodermium seditiosum* Minter, Staley & Millar.

В остальных классах (Arthoniomycetes, Eurotiomycetes, Pezizomycetes, Cystobasidiomycetes, Pucciniomycetes, Microbotryomycetes) выявлено по 1-2 вида: *Phaeococcomyces* sp., *Aspergillus* sp., *Desmazierella acicola* Lib., *Symmetrospora* sp., *Symmetrospora coprosmae* (Hamam. & Nakase) Q.M. Wang, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout, *Coleosporium* sp., *Leucosporidium scottii* Fell, Statzell, I.L. Hunter & Phaff.

Ряд изолятов был определен с точностью до рода, так как в генетической базе данных NCBI отсутствует информация о видовой принадлежности выявленных генотипов, что может быть связано с недостаточным описанием их морфолого-культуральных свойств.

В выявленном комплексе микобиоты хвои и побегов сосны обыкновенной виды, которые могут наносить ущерб, вызывая болезни, составили 51,0%, в том числе виды с подтвержденным или обсуждаемым инвазивным статусом составили 13,7% (*Lecanosticta acicola*, *Dothistroma septosporum*, *Cyclaneusma minus*, *Truncatella hartigii*, *Pestalotiopsis funerea*, *Sydowia polyspora*,

Neocatenulostroma germanicum). Сапротрофы, симбионты и прочие виды составили 49,0%.

В основном, спектр грибной инфекции был поливидовым: в 75,0% изученных образцов отмечено наличие 10 и менее видов микромицетов, в 25,0% образцов – 11 и более видов, причем наибольшее количество видов микромицетов (19) выявлено в 2,3% исследованных образцов. Следует отметить, что количественный и качественный состав микобиоты хвои и побегов сосны обыкновенной существенно различался не только в разных локациях, но и в пределах одной площадки у близко расположенных деревьев. В целом, видовой состав выявленной нами в собранных образцах хвои и побегов сосны обыкновенной микобиоты был схожим с таковым в исследованиях других авторов [8, 9].

Сведения по биологии большинства выявленных микромицетов, их встречаемости, вредоносности, путях распространения на территории республики немногочисленны или отсутствуют. В связи с их потенциальной вредоносностью, необходимо проведение дальнейших исследований.

Список литературы

1. Синадский Ю.В. Сосна. Ее вредители и болезни. – М.: Наука, 1983. – 344 с.
2. 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.
3. Drenkhan R., Hanso M. Recent invasion of foliage fungi of pines (*Pinus* spp.) to the Northern Baltics // *Forestry Studies*. – 2009. – Vol. 51. – P. 49-64.
4. First record of *Neocatenulostroma germanicum* on pines in Lithuania and Ukraine and its co-occurrence with *Dothistroma* spp. and other pathogens / S. Markovskaja [et al.] // *Forest Pathology*. – 2016. – Vol. 46, Iss. 5. – P. 522-533. <https://doi.org/10.1111/efp.12308>.
5. Occurrence of *Dothistroma* needle blight in Lithuania and Belarus: The risk posed to native Scots Pine forests / S. Markovskaja [et al.] // *Forest pathology*. – 2020. – e12626. <https://doi.org/10.1111/efp.12626>.
6. Головченко Л.А., Дишук Н.Г., Пантелеев С.В., Баранов О.Ю. Новый инвазивный вид *Mycosphaerella dearnessii* в составе микобиоты хвои сосны на территории Беларуси // *Весті НАН Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2020. – Т. 65, № 1. – С.98-105.
7. 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.
8. Kowalski T., Drożyńska K. Mycobiota in needles and shoots of *Pinus nigra* following infection by *Dothistroma septosporum* // *Phyton* (Horn, Austria). – 2011. – Vol. 51, fasc. 2. – P. 277-287.
9. Zamora P., Martinez-Ruiz C., Diez, J.J. Fungi in needles and twigs of pine plantations from northern Spain // *Fungal Diversity*. – 2008. – Vol. 30. – P. 171-184.

ПЕРВОЕ НАХОЖДЕНИЕ НА ЛИМОНИТЕ *STEREOCAULON VESUVIANUM* (SM.) ACH. В БЕЛАРУСИ

Голубков В.В.
Гродно, Беларусь

Впервые для Беларуси на куске лимонита (болотной руды), широко распространенного в Восточной Европе минерального конгломерата, сопутствующего лесам умеренного пояса [1] был найден ранее неизвестный в республике вид – *Stereocaulon vesuvianum* (Sm.) Ach. Его местонахождение является подтверждением пионерной роли лишайников в заселении непригодных субстратов и использовании их как подходящего места прикрепления, что характерно для симбионта с автотрофным типом питания, благодаря чему он успешно адаптируется к суровым условиям голого субстрата.

Описание. Псевдоподций без войлочного налета 1-4 см высоты, покрыт филлокладиями, похожими на бородавки, с темно-оливковой центральной частью и бледными краями. Филлокладии обычно отдельные, но иногда эпизодически распадаются на зернистые соредии. Слоевище содержит водоросль *Stigonema*. Первичное слоевище исчезает. *S. vesuvianum* обычный эпилитный лишайник, предпочитающий кремнистые породы [2, 3].

Распространение. Распространен циркумполярно, являясь космополитическим видом, представленным на всех континентах [4, 5]. Встречается от бореально-горного до арктико-альпийского поясов, где обычно произрастает на кислых кремнистых камнях и горных породах [2, 3]. Известен на различных вулканических породах, а также на поздних стадиях сукцессии, например, в хорошо освещенных лесах с каменистым субстратом [2]. *S. vesuvianum* относится к группе лишайников, обитающих в зоне умеренного климата, без сухого сезона с теплым летом [4, 5].



Рис. 1. Внешний вид *S. vesuvianum* (Внизу кусок лимонита с фрагментами псевдоподция)

S. vesuvianum (см. Рис.) найден на куске болотной руды (лимоните), в смешанном лесу в окрестностях г. Гродно (53°44'N 23°49'E) вблизи 13-го форта Гродненской крепости. Созологический анализ показал, что этот вид отмечен как исчезающий в Чехии [6] и Эстонии [7]. Считался уязвимым на севере Польши [8]. В Дании находился под угрозой исчезновения [9]. Подвержен риску в Германии [10], где числился чрезвычайно редким на севере [11] и на юго-западе страны [12]. Наименьшее беспокойство вызывал в Англии [13]. Подвержен риску на равнинных территориях России и указан как: редкий в Волгоградской области [14]; находящийся под угрозой в Тульской области [15]; исчезнувший в Воронежской области [16].

Поскольку *S. vesuvianum* включен в Красные списки некоторых европейских стран [6, 7, 8, 9, 10], подвержен риску на равнинных территориях России [14, 15, 16], а также известен в единственном местонахождении на территории Беларуси рекомендуется ввести его в список лишайников кандидатов для включения в последующее (5-е издание Красной книги РБ).

Автор благодарен своим коллегам из России Д.Е. Гимельбранту и И.С. Степанчинковой за помощь в сотрудничестве и идентификации *S. vesuvianum*.

Список литературы

1. <https://ru.wikipedia.org/wiki/Лимонит>
2. Vancurová L., Malíček J., Steinová J., Škaloud P. Choosing the Right Life Partner: Ecological Drivers of Lichen Symbiosis. *Front. Microbiol.* 2021. Vol. 12. 18 p.
3. Домбровская А.В. Род *Stereocaulon* на территории бывшего СССР. Санкт-Петербург, 1996. 265 с.
4. Oset M. The lichen genus *Stereocaulon* (Schreb.) Hoffm. in Poland – a taxonomic and ecological study. *Monographiae Botanicae.* 2014. Vol. 104. P. 1–81.
5. https://en.wikipedia.org/wiki/Humid_continental_climate#Koppen_Dfb.
6. Malíček J. Red list of lichens of the Czech Republic according to DaLiBor for 2023. – <https://dalib.cz/data/redlist>.
7. Lõhmus P., Marmor L., Jüriado I., Suija A., Oja E., Degtjarenko P., Randlane T. Red List of Estonian lichens: revision in 2019. *Folia Cryptog. Estonica.* 2019. Vol. 56. P. 63–76.
8. Fałtynowicz W., Kukwa M. Red list of threatened lichens in Gdansk in Pomerania. *Monogr. Bot.* 2003. Vol. 91. P. 63–77.
9. The Danish Red Data Book. *Taxon Lichehes.* 2014.
10. Otte V. Rote Liste und Gesamtartenliste der Flechten (Lichenes) von Berlin. In: *Berlantesbeauftragte für naturschutz und landschaftspflege.* 2005.
11. Dolnik C., Stolley G., Zimmer D. Die Flechten Schleswig-Holsteins Rote Liste, Kiel, 2010. 106 s.
12. Wirth V. Rote Liste und Artenverzeichnis der Flechten Baden-Württembergs. Rastatt, Greiserdruck, 2008. 64 s.
13. Woods R.G. A Lichen Red Data List for Wales. *Plantlife,* Salisbury, 2010. 69 p.
14. Красная книга Волгоградской области. Книга в двух томах. 2-е изд., перераб. и доп. Т. 2. Растения и другие организмы / под ред. О.Г. Барановой, В.А. Сагалаева. Воронеж: ООО «Изд-дат-Принт», 2017. 268 с.

15. Красная книга Тульской области: растения / под ред. А. В. Щербакова. Тула: Аквариус, 2020. 275 с.

16. Красная книга Воронежской области (растения, грибы, лишайники). Т. 1. / под ред. В.А. Агафонова. Воронеж: МОДЭК. 2011. 472 с.

НОВЫЙ ВИД *LACTOCOLLYBIA* SP. В РОССИИ ИЗ ТЕПЛИЦ ЦСБС СО РАН

Горбунова И. А.¹, Филиппова Н. В.²

¹Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск

²Югорский государственный университет, Ханты-Мансийск

Род *Lactocollybia* Singer относится к группе коллибиоидных грибов, включающей разнообразные виды с плодовыми телами, напоминающими представителей сапротрофного рода *Gymnoporus*. В разные периоды *Lactocollybia* относили к разным семействам порядка Agaricales (Hosen et al., 2016, Contu, 2000, Al-Khesraji et al., 2021), на данный момент таксономический статус рода на уровне семейства не определен. В настоящее время данный род включает 18 видов (Index Fungorum. URL: <http://www.indexfungorum.org>), которые характеризуются коллибиоидными, миценоидными, редко плевротоидными базидиомами, с белым или кремоватым спорным порошком. Главным отличительным признаком этого рода является наличие глеосцистид и глеососудов в тканях и на поверхности плодового тела. Большинство видов обнаружено в тропиках и субтропиках, но есть сведения о нахождении представителей рода *Lactocollybia* на всех континентах, кроме Антарктиды (GBIF.org, 2024). Поселяются виды данного рода на древесине, коре, древесных остатках, почве и перегное. Считается, что виды *Lactocollybia* не могут развиваться в природе в регионах с холодной зимой. Поэтому, в некоторых странах Европы плодовые тела *Lactocollybia* обнаружены в цветочных горшках с комнатными растениями (Gubitz, Reul, 2019, Hausknecht, Krisai-greiuibkr, 2008). В Австрии даже описан новый для науки вид *Lactocollybia dendrobii* Hauskn. et Krisai, появившийся в цветочном горшке, в помещении, на отмерших остатках *Dendrobium stuartii* (Hausknecht, Krisai-greiuibkr, 2008).

В России первым о необычном виде из рода *Lactocollybia* из Ленинградского ботанического сада сообщил Р. Зингер. Данный вид был описан ранее как *Collybia cycadicola* Joss., но позже в 1939 году был переименован в *Lactocollybia cycadicola* (Joss.) Singer (Index Fungorum). Других сведений о нахождении видов из рода *Lactocollybia* на территории России не отмечено.

В марте 2023 года в Новосибирске, в фитотроне Центрального Сибирского Ботанического Сада СО РАН (ЦСБС СО РАН), в цветочном горшке, в котором была посажена орхидея (*Bulbophyllum* sp.), привезенная из Таиланда или Вьетнама, появились плодовые тела коллибиоидного вида, они были собраны, описаны морфологически и сохранены в коллекции (NSK 1013067, YSU-F-13823). Кроме этого, был получен сиквенс региона ITS ядерной рибосомальной ДНК (номер GenBank PP277296).

Морфологические признаки изученного образца: шляпка беловато-желтоватая, от выпуклой до широковыпуклой с бугорком или с ямочкой в центре, край гладкий, ровный или слабо волнистый; поверхность опушенная, от обилия глеосцистид блестящая. Мякоть тонкая, хрупкая, беловатая. Пластинки у обнаружен-

ного нами вида отличаются от пластинок других видов цветом, размером и частотой. Они слабо нисходящие, очень частые и узкие, лимонно-желтого цвета. Ножка прямая, слегка уплощенная, с углублением по всей длине в виде борозды, утолщенная в основании, поверхность матовая, опушенная, беловато-желтоватая, с обильным белым мицелием в основании. Запах и вкус неопределенный. Базидиоспоры широко миндалевидной формы, гладкие, гиалиновые, неамилоидные, тонкостенные. Базидии булавовидные, 4-, редко 2-споровые. Хейлоцистиды и плевростиды отсутствуют, что не характерно для других видов *Lactocollybia*. Хризоцистидоподобные клетки многочисленны на поверхности пластинок, различной формы – от узкоцилиндрических до веретенообразных, иногда с утолщениями в виде головки, извилистые, тонкостенные, с желтым содержимым. В пластинчатой траме также отмечены многочисленные клетки с желтым содержимым веретенообразной формы с утолщением в центре. Подобные клетки наблюдаются в шляпке и ножке.

Место сбора: на почве, в горшке с орхидеей, 21.03.2023, Россия, Новосибирск, ЦСБС СО РАН, тепличный комплекс, 54.81994N, 83.10445E.

По морфологическим характеристикам сибирские образцы имеют некоторое сходство с *L. cycadicola* и с африканским видом, описанным для науки значительно позже *L. variicystis* D.A. Reid et Eicker (Reid, Eicker, 1998). В качестве родового признака, у наших образцов отмечено большое количество глеосцистид и глеососудов с желтым содержимым в пластинках, на шляпке и ножке, что характерно для видов данного рода. Форма, окраска спор, отсутствие амилоидной реакции идентичны у всех трех указанных видов, однако размеры базидиоспор нашего образца больше подходят к таковым у *L. cycadicola* (у *L. variicystis* споры крупнее). Возможно, это связано с условиями произрастания, так как плодовые тела у наших образцов имеют меньшие размеры и отличаются хрупкостью (высушенные образцы крошатся от прикосновения).

Анализ сходства полученного сиквенса изученного нами образца с помощью алгоритма BLAST выявил один образец рода *Lactocollybia* в базе NCBI с высоким сходством 99,5% (1 замена и 2 вставки в нашем сиквенсе). Этот образец не определен до вида (*L. sp.*, ON175991.1), был собран в штате Огайо (г. Колумбус) в городской среде и, хотя местообитание точно не указано, вероятно, также на привозном субстрате. На странице образца на портале BOLD опубликована его фотография (BOLD). По снимку можно судить об отдаленном сходстве морфологического строения: наш образец имеет более светлую окраску, более нисходящие пластинки, часть плодовых тел имеют углубления (ямочки)

в центре шляпки. Вероятно, эти различия объясняются молодым возрастом, сфотографированных американских образцов.

Таким образом, в тепличном комплексе ЦСБС СО РАН был обнаружен, вероятно, новый для науки вид *Lactocollybia* sp., морфологически отличающийся от других представителей рода. Молекулярно-генетический анализ подтвердил сходство на уровне рода, а также выявил близкую по сиквенсу находку на Американском континенте. Скорее всего, в природе этот вид обитает в субтропической зоне, откуда привозится с грунтом (в горшках) и вырастает в благоприятных комнатных или оранжерейных условиях.

Список литературы

1. Hosen M. I., Li T. H., Chen X. N., Deng, W. Q. 2016. *Lactocollybia subvariicystis*, a new species of little known genus *Lactocollybia* from subtropical south China. *Mycosphere* 7 (6): 794–800. <http://doi.org/10.5943/mycosphere/7/6/10>
2. Contu M. 2000. II genere *Lactocollybia* SING. (Agaricales, Tricholomataceae) in Sardegna. *Boll. Assoc. Micol. Ecologica Romana* 49–50: 9–15.
3. 1Al-Khesraji T. O., Mezher M. A., Shugran A. H. M. 2022. First report on the morphological and molecular identification of

Lactocollybia variicystis from Salahadin Governorate, North Central Iraq. *Eco. Env. & Cons* 28 (2): 626–630. <http://doi.org/10.53550/EEC.2022.v28i02.008>

4. Index Fungorum [2024]. URL: <http://www.indexfungorum.org> (Accessed 20 March 2024).
5. GBIF.org. GBIF Occurrence Download. <https://doi.org/10.15468/dl.f4cuks>
6. Gubitz C., Reul M. 2019. Seltene und bemerkenswerte Pilzfunde aus Nordost-Bayern, speziell aus dem Stadtgebiet von Bayreuth. *Mycologia Bavarica* 19: 49–100.
7. Hausknecht A. Krisai-greiuubkr I. 2008. *Lactocollybia dendrobii* (Tricholomataceae, Agaricales), a new species from a flower pot in Austria. *Österr. Z. Pilzk* 17: 53–57.
8. Reid D. A., Eicker A. 1998. South African fungi. 6. The genus *Lactocollybia* (Basidiomycota) in South Africa. *Mycotaxon* 66: 153–63.
9. BOLD specimen record NAMP1321-21. 2024. URL: http://boldsystems.org/index.php/Public_RecordView?processid=NAMP1321-21 (доступ на 26.03.2024)

РАЗНООБРАЗИЕ СЕМЕЙСТВА AGARICACEAE ВЬЕТНАМА В СВЕТЕ СОВРЕМЕННОЙ СИСТЕМЫ BASIDIOMYCOTA

Иванова Д.Д.

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

Семейство Agaricaceae Chevall. было выделено французским ботаником Франсуа Шевалье (Chevallier, 1826). Название основано на роде *Agaricus*, изначально описанном Карлом Линнеем (Linnaeus, 1753).

Самая известная концепция систематики Agaricaceae была предложена Рольфом Зингером: в семейство было включено 25 родов, распределённых по трибам Leucosporineae, Agariceae, Lepioteae и Cystodermateae на основании цвета споровых отпечатков, а также ornamentации и амиллоидности спор (Singer, 1986).

В конце 20 века в микологии стал активно применяться молекулярно-генетический метод исследования, внёсший серьёзные изменения в систематику грибов в целом, и семейства Agaricaceae в том числе. Так, одна из приведённых выше триб, Cystodermateae, была исключена из семейства после анализа генетических последовательностей, в то же время в него вошли представители с гастероидными и секотииоидными базидиомами (Johnson & Vilgalys, 1998).

В «Dictionary of the Fungi» 2001 года для семейства Agaricaceae указаны 51 род и 918 видов (Kirk et al., 2001). В издании 2008 года семейство охватывало уже 85 родов и 1340 видов (Kirk et al., 2008).

В 2004 году вышла работа Э. Веллинга, посвящённая пересмотру систематики и таксономии семейства Agaricaceae с использованием секвенирования последовательностей ITS и LSU регионов и филогенетического анализа. В результате ревизии из семейства были исключены *Notholepiota areolata*, роды *Cystagaricus* и *Leucopholiota* (Vellinga, 2004). В 2011 Веллинг и коллеги описали 2 новых белоспоровых рода: *Coniolepiota* и *Eriocybe* (Vellinga et al., 2011).

Система Agaricaceae продолжает претерпевать реорганизацию и в настоящее время. Все современные ра-

боты по систематике проводятся на основе сочетания морфологического и молекулярно-генетического подходов, при этом решающее значение приобретает последний. На основе этих данных в пределах семейства описываются новые роды, меняется родовая принадлежность видов (Vellinga, 2004; Hussain et al., 2018).

В работе, обобщающей последние достижения в области систематики Agaricales (Kalichman, 2020), Agaricaceae рассматривается как в широком смысле (с включением представителей Tulostomataceae, Lycoperdaceae, Lepioteaceae, Coprinaceae), так и в узком, охватывающем только кроновую часть филогенетического дерева. Agaricaceae s. str. включает 17 родов, не входящих в вышеуказанные семейства: *Agaricus*, *Barcheria*, *Chlorolepiota*, *Chlorophyllum*, *Clarkeinda*, *Coniolepiota*, *Eriocybe*, *Heinemannomyces*, *Hymenagaricus*, *Leucoagaricus*, *Leucocoprinus*, *Macrolepiota*, *Micropsalliota*, *Podaxis*, *Pseudo-lepiota*, *Termiticola*, *Xanthagaricus*. В своей работе мы придерживаемся узкого понимания семейства.

В настоящее время в странах Юго-Восточной Азии проводятся интенсивные исследования Agaricaceae. Тем не менее, до последнего времени территория Вьетнама оставалась слабо изученной в отношении этого семейства. В обобщающей работе вьетнамских коллег для территории Вьетнама указываются представители Agaricaceae s.str. в следующем составе: *Agaricus* (20 видов), *Chlorophyllum* (1 вид), *Leucocoprinus* (10 видов), *Leucoagaricus* (2 вида), *Macrolepiota* (6 видов) (Danh lục các loài..., 2001).

Материал был собран разными коллекторами на особо охраняемых территориях Вьетнама с 2010 по 2023 годы. Исследование проводилось с использованием морфологического и молекулярно-генетического

методов. Для проведения филогенетического анализа секвенировались ITS1-5,8S-ITS2 и LSU участки ДНК.

Исучаемые образцы распределились по 11 родам: *Agaricus*, *Chlorophyllum*, *Clarkeinda*, *Coniolepiota*, *Heinemannomyces*, *Hymenagaricus*, *Leucoagaricus*, *Micropsalliota*, *Xanthagaricus* (Рис. 1). В настоящее время удалось идентифицировать 56 образцов, относящихся к 27 видам, и 107 образцов, вероятно, представляют собой новые для науки виды.

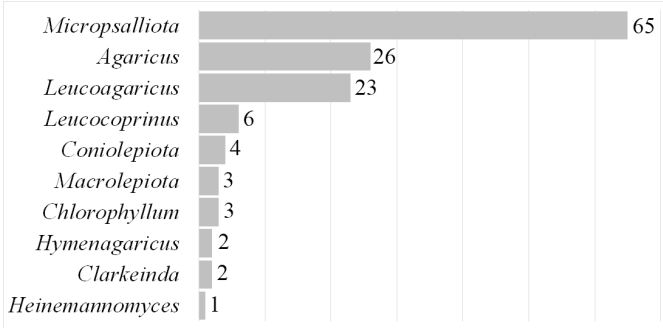


Рис. 1. Количество образцов семейства Agaricaceae, собранных на ООПТ Вьетнама.

На сегодняшний день наибольшее количество данных накоплено по роду *Micropsalliota*. Предварительно выявлено 25 видов этого рода. Из них 4 вида описаны нами из национального парка Бузямап (*M. albofelina*) и природно-культурного заповедника Донгнай (*Micropsalliota appendiculata*, *M. inflata*, *M. suricatoides*) как новые для науки (Crous et al., 2021; Ivanova et al., 2023), 8 ещё предстоит описать.

Сбор коллекционного материала и его изучение комплексом методов продолжают.

Список литературы

1. Chevallier F.F. (1836) Flore générale des environs de Paris, selon la méthode naturelle. Description de toutes les plantes Agames, Cryptogames et Phanérogames qui y croissent spontanément; leurs propriétés, leur usage dans la médecine, les arts et “Flore générale des

environs de Paris” by F.F. Chevallier 305 l'économie domestique; avec une classification naturelle des Agames et des Cryptogames, basée sur l'organisation de ces végétaux; et accompagnée de dix-huit tableaux iconographiques formant un genera propre à en rendre l'étude plus facile. Paris, Ferra Jeune. Vol. 1: 1–680.

2. Linneus C. Species Plantarum. Lund: 1753.
3. Singer R. (1986) The Agaricales in Modern Taxonomy. 4th edition. Koegnistein: Koeltz Scientific Books. 981 p.
4. Johnson, J. & Vilgalys, R. (1998) Phylogenetic systematics of *Lepiota* sensu lato based on nuclear large subunit rDNA evidence. Mycologia, 90: 971–979.
5. Kirk, P. M., Cannon, P. F., David, J. C. & Stalpers, J. A. (2001) Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi (9th ed.). Wallingford: CAB International.
6. Kirk P. M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. (2008) Dictionary of the Fungi (10th ed.). Wallingford: CAB International.
7. Vellinga E. C. (2004) Genera in the family Agaricaceae: evidence from nrITS and nrLSU sequences. Mycological Research, 10: 352–377.
8. Vellinga E. C., Sysouphanthong, P., Hyde K. D. (2011) The family Agaricaceae: Phylogenies and two new white-spored genera. Mycologia, 103, 494–509.
9. Hussain S., Afshan N.S., Ahmad H., Sher H., Khalid A.N. (2018) *Xanthagaricus pakistanicus* sp. nov. (Agaricaceae), the first report of the genus from Pakistan. Turk. J. Bot., 42: 123–133.
10. Kalichman J., Kirk P.M., Matheny P.B. (2020) A compendium of generic names of agarics and Agaricales. Taxon, 69: 425–447.
11. Đại học quốc gia Hà Nội. Trung tâm tài nguyên và môi trường. (2001) Danh lục các loài thực vật Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp 1: 1248.
12. Crous P.W., Osieck E.R., Jurjevi et al. Fungal Planet description sheets: 1284–1382. Persoonia, 47: 178–374.
13. Ivanova D.D., Morozova O.V., Pham T.H.G. (2023). Three new species of *Micropsalliota* (Agaricaceae, Basidiomycota) from Central and South Vietnam. Phytotaxa, 626(4): 247–258.

К ВОПРОСУ О ПРАКТИЧЕСКИХ МЕРАХ ОХРАНЫ АГАРИКОМИЦЕТОВ РАЗЛИЧНЫХ ТРОФИЧЕСКИХ ГРУПП НА ПРИМЕРЕ ПЕНЗЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Иванов А.И.

Пензенский государственный аграрный университет

Грибы, объединяемые в класс агарикомикетов, существенно отличаются друг от друга по своим биологическим особенностям в связи с чем их разделяют на ряд эколого-трофических групп. Их количественное соотношение в микобиотах лесной и лесостепной зон имеет сходные показатели. Однако в региональных Красных книгах они представлены по разному. В большинстве подобных изданий в число редких видов нуждающихся в охране преобладают симбиотрофы. Например, перечне видов для третьего издания Красной книги Пензенской области они составляют 64% [1]. Это объясняется тем, что к данной эколого-трофической группе относятся виды, для которых в основном применимы критерии, рекомендуемые для определения категорий редкости для объектов растительного мира. Они имеют крупные плодовые тела с хорошо выраженными морфологическими признаками. Среди них много стенотопных видов, имеющих узкую специализацию в отношении

местообитаний, которыми часто являются климаксовые сообщества, связанные с определёнными типами почв. В связи с этим лимитирующие факторы, влияющие негативно на численность этих грибов также достаточно определённы. В первую очередь это различные виды антропогенного влияния на экотопы, с которыми связаны стенотопные виды симбиотрофов. В связи с этим основной практически реализуемой мерой охраны этих грибов является включение их местообитаний в состав ООПТ.

Например, в условиях Пензенской области с точки зрения охраны заслуживают внимания базофильные виды грибов симбиотрофов, образующих микоризы с *Quercus robur* и его спутниками только на почвах, формирующихся на карбонатных породах: мелах, мергелях и продуктах их деструкции. Это *Amanita strobiliformis*, *Clavariadelphus pistillaris*, *Cortinarius elegantissimus*, *C. psittacinus*, *Leccinellum crocipodium*, *Hygrophorus russula* и

др. Причинами реальных угроз их местообитаниям могут быть: вырубка дубовых лесов в указанных экотопах; отвод лесных земель под карьеры в связи с увеличением объёмов добычи карбонатных пород в качестве цементного сырья; рекреационные нагрузки и отвод земель под строительство объектов рекреационной инфраструктуры.

Базофильные виды встречаются также в условиях пойм, где источником карбонатов являются залегающие близко к поверхности насыщенные соединениями кальция грунтовые воды. Пойменные дубравы, приуроченные к подобным местообитаниям, в бассейне р. Волги и её притоков, в частности р. Суры, являются рефугиумами неморальной микобиоты. Они находятся на восточной границе распространения составляющих её видов, таких как *Calonarius odoratus*, *Hemileccinum depilatum Rubroboletus legaliae*, *Rubroboletus satanas* и др. Угроза их местообитаниям связана с постройкой гидротехнических сооружений и нарушением гидрологического режима пойм. Эта угроза, а также ослабление фактора весеннего половодья, связанного с климатическими изменениями, делает также уязвимыми виды, обитающие в прирусловой пойме в условиях песчаных кос и островов, например, *Inocybe serotina*.

Практическая реализация мероприятий по охране указанных стенотопных видов может быть реализована путём включения их местообитаний в состав ООПТ. Подобный опыт имеется в Пензенской области, где были созданы два памятника природы регионального значения микологической направленности «Бурчихинские склоны» и «Пойменная дубрава» для охраны стенотопных кальцефильных видов агарикомицетов.

Наряду со стенотопными неморальными видами грибов, образующими микоризы с дубом, в третьем издании Красной книги Пензенской области включены редкие бореальные виды симбиотрофов, такие как *Cortinarius violaceus*, *Gyroporus cyanescens* и *Russula betularum*, связанные отношениями симбиоза с *Pinus sylvestris* и *Betula pendula*. В Пензенской области они находятся на южной границе своего распространения в условиях Русской равнины. Их охрана осуществляется на заповедном участке «Верховья Суры» ГПЗ «Приволжская лесостепь» а также в пределах памятников природы «Никоновский бор», «Засурский бор черничник» и «Золотарёвский сосновый бор».

Трофическая группа паразитов, включая облигатных и факультативных, в третьем издании Красной книги Пензенской области представлена восемью видами, что составляет примерно 30% от видов данной трофической группы распространённых в регионе. Из них четыре – *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa*, *Polyporus umbellatus*, *Sparassis crispa* – ассоциированы с древесными растениями. Один – *Picipes rhizophilus* – паразитирует на травянистом растении *Stipa capillata*, а *Pseudoboletus parasiticus* – на грибе *Scleroderma citrinum*.

Важной особенностью биологии паразитов древесных растений является формирование длительно живущих, локализованных на ограниченной территории, очагов вызываемой ими инфекции. Уязвимость последних связана с тем, что вырубка леса может быть причиной уничтожения местообитаний, с которыми связаны эти очаги. Поэтому они должны выявляться и включаться в состав ООПТ. В связи с тем, что представители рассматриваемой трофической группы занесены в Красную книгу Российской Федерации и в Приказ об утверждении объектов растительного мира, занесённых в Красную книгу РФ от 23.05.23 г. эти грибы занесены в большинство

Красных книг регионов, в которых они встречаются. По сравнению с редкими видами симбиотрофов паразиты менее уязвимы. Это связано с тем, что их мицелиальные культуры хорошо растут на искусственных питательных средах, а на стерильных лигноцеллюлозных субстратах они образуют нормально развитые плодовые тела, в которых формируются споры. Например, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa*, *Polyporus umbellatus* культивируются даже в промышленных масштабах, для получения биологически активных веществ [2]. Благодаря указанным особенностям биологии этих грибов, сохранение их генетического фонда возможно не только в природных условиях, но и в коллекциях мицелиальных культур. Это даёт возможность реинтродукции рассматриваемых видов в естественные местообитания. Агарикомицеты, паразитирующие на мхах, представлены в третьем издании Красной книги Пензенской области двумя видами – *Galerina paludosa* и *G. sphagnorum*. Их уязвимость определяется теми же природными и антропогенными факторами, что и уязвимость сфагновых мхов, занесённых в перечень видов для третьего издания Красной книги Пензенской области [1], с которыми они связаны. Соответственно их охрана осуществляется в пределах тех же ООПТ, где охраняются сообщества моховых болот.

Сапротрофы представлены в третьем издании Красной книги Пензенской области десятью видами. Из них девять – сапротрофы на почвенном гумусе. Эти грибы в микобите региона представлены 237 видами, т.е. в Красную книгу занесено менее 5% от из видового состава. Среди представителей рассматриваемой трофической группы много видов, редких не только для Пензенской области, но территории России в целом [3].

Некоторые редкие виды гумусовых сапротрофов имеют узкую специализацию в отношении определённых экотопов и подобно микоризообразующим грибам являются стенотопными видами – обитателями климатических сообществ. Например, *Amanita vittadinii*, *Aspropaxillus lepidoides*, *Floccularia luteovirens* и *Geastrum campestre* – обитатели степных сообществ. Такой вид, как *Geastrum melanocephalum* в условиях Пензенской области связан исключительно с зарослями степных кустарников, в частности, *Prunus spinosa*. Для широколиственных лесов характерны: *Agaricus augustus* и *Lycoperdon mammaeforme*, а для сосново-широколиственных на карбонатных почвах – *Geastrum corollinum*, *Geastrum fimbriatum* и *Leucopaxillus tricolor*. Поэтому основной практической мерой охраны перечисленных видов, как и в отношении стенотопных видов симбиотрофов является включение их местообитаний в состав ООПТ. В Пензенской области эти грибы охраняются в природных сообществах: в ГПЗ «Приволжская лесостепь» на участке «Островцовская лесостепь» – *Amanita vittadinii*, *Aspropaxillus lepidoides* и *Geastrum melanocephalum*; на участке «Кунчеровская лесостепь» – *Geastrum campestre*; на территориях памятников природы регионального значения, таких как «Степь Большой Ендовы» – *Floccularia luteovirens* и *Geastrum campestre* и «Пойменная дубрава» – *Agaricus augustus* и *Lycoperdon mammaeforme*.

Вторую категорию редких видов составляют гумусовые сапротрофы, не связанные с определёнными растительными сообществами. Вероятно, они представляют собой реликтовый элемент древних микобиот вюрмских степей и лесостепей, широко распространённых в прошлом, которые в результате влияния человека, истребившего крупных травоядных, в первую очередь мамонтов, туров, бизонов сменились зоной сплошных лесов [4]. В связи с этим утраченные естественные местообитания

гумусовые сапротрофы внедрились в антропогенные сообщества, где и продолжают держаться до сих пор. Например, ряд редких в России видов агарикомицетов на территории Пензенской области были отмечены в подкronовых зонах интродуцированных видов деревьев: *Agaricus benesii* – *Picea abies*, *A. bresadolianus* – *Robinia pseudoacacia*, а *A. subperonatus* – *Picea pungens*. Некоторые редкие виды рассматриваемой трофической группы оказываются приурочены к селитебным территориям. Так *Agaricus urinaseus* был отмечен нами возле старых ометов соломы, а *Battarrea phalloides* на отвалах перепревшей конопляной костры. Подобные местобитания не соответствуют критериям ООПТ, определяемым природоохранным законодательством РФ. Поэтому для определения категории редкости подобных видов необходима разработка особых критериев. Сохранять их генетический фонд возможно в коллекциях мицелиальных культур. В связи с этим возникает необходимость в создании баз их хранения в масштабе федеральных округов на базе наиболее крупных ботанических садов.

Такой подход перспективен и для охраны редких видов подстилочных сапротрофов и большинства ксилотрофов. Однако охрана последних возможна и в составе ООПТ. В первую очередь это касается редких видов, развивающихся на отпаде старых деревьев большого диаметра. Например, включённый в третье издание Красной книги Пензенской области – *Cellulariella warnieri*. Он узкоспециализирован в отношении питающего субстрата – валежника *Ulmus laevis* большого диаметра. Только со старыми экземплярами *Quercus robur* связан *Pseudoinonotus dryadeus*, *Pinus sylvestris* – *Phaeolus*

schweinitzii, *Euonymus europaeus* – *Phylloporia ribis*. В связи с этим участки старого леса, где встречаются названные и подобные им по своей биологии виды должны включаться в состав ООПТ. При этом важнейшим пунктом ограничения хозяйственной деятельности на их территориях должен быть запрет санитарных рубок, уборка сухостоя и валежника. Примером создания подобной ООПТ в Пензенской области может быть памятник природы регионального значения «Присурская дубрава». Большую часть его территории занимает разновозрастное насаждение *Q. robur*, где возраст самых старых экземпляров этого дерева превышает 200 лет.

Список литературы

1. Иванов А.И. Третье издание Красной книги Пензенской области: П. Мхи, Лишайники, Грибы. Фиторазнообразие Восточной Европы / Phytodiversity of Eastern Europe. 2024. Т.18.№ 2. С. 35–61.
2. Иванов А.И. Грибоведство: учебное пособие [Электронное издание]. – Пенза: РИО ПГАУ, 2019. 205 с.
3. Иванов А.И. 2018. Шампиньоны России (род *Agaricus* L.). Видовой состав, экология, культивирование. Пенза. 200 с.
4. Калякин В. Н. История развития лесного пояса Восточной Европы // Восточно-Европейские леса. Москва: Наука, 2004. Т. 1. С. 59–87.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ ПО МОНИТРИНГУ ОХРАНЯЕМЫХ ГРИБОВ РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ

Ивойлов А.В.

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

Во 2-е издание Красной книги Республики Мордовия включены 59 видов грибов, в т.ч. 24 вида лихенизированных грибов и 35 видов макромицетов (5 представителей сумчатых грибов – *Ascomycota* и 30 базидиальных – *Basidiomycota*) [1]. Пять таксонов – *Saproamanita vittadinii* (Moretti) Redhead, Vizzini, Drehmel & Contu, *Rubinoletus rubinus* (W.G. Sm.) Pilát & Dermek, *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr. и *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray – входят в Красную книгу Российской Федерации [2].

Начиная с 2007 г. в окрестностях пгт Ялга городского округа Саранск проводятся наблюдения за появлением плодовых тел краснокнижных грибов (мухомор Виттадини, рубиноболет рубиновый, болет коренящийся и полубелый гриб). Для этого в теплое время года (начиная с конца мая – первых чисел июня) локалитеты редких грибов посещались с интервалом от 1–1,5 недель до 3–5 дней (в зависимости от метеоусловий), а результаты учетов и наблюдений фиксировались, в том числе фотографированием плодовых тел и гербаризацией отдельных экземпляров для отправки в БИН им. В.Л. Комарова.

1. *Saproamanita vittadinii* (Moretti) Redhead, Vizzini, Drehmel & Contu (= *Amanita vittadinii* (Moretti) Vittad.) – мухомор Виттадини. Вид впервые отмечен в Республике Мордовия в 2007 г. (26 VII) в пгт Ялга ГО Саранск на

почве вблизи хозяйственных построек жителей поселка [3]. На участке площадью 8–9 м² были найдены 4 плодовых тела, в 2008 г. (20 VII) – 2, в 2009 г. (11 VIII), 2011 г. (16 IX), 2012 г. (15 IX) и 2013 г. (08 VIII) – по одному плодовому телу (HNMN 10011, 10121, 10156). В 2010, 2014 и 2015 гг. гриб не был обнаружен. В 2013 г. (04 IX) найдено два плодовых тела в 200 м западнее первого локалитета. В 2016 г. (03 VIII) отмечено третье местонахождение макромицета – в 450–500 м юго-западнее первого (найден одно плодовое тело). После 2016 г. плодовые тела этого редкого мухомора не наблюдались, так как на местах находок грибов началось строительство, и были построены многоквартирные дома.

В 2023 г. (9 VIII), спустя 7 лет, в пгт Ялга был отмечено новое местонахождение мухомора Виттадини (N54°07'46" E45°07'59"02). Рядом с поселковой церковью было найдено одно плодовое тело (имеется фото, гербарный образец отправлен в БИН им. В.Л. Комарова в LE). Другие местонахождения мухомора Виттадини в пределах Мордовии пока не отмечены.

2. *Rubinoletus rubinus* (W.G. Sm.) Pilát & Dermek – рубиноболет рубиновый. В Мордовии известны два локалитета – в окрестностях ГО Саранск (кв. 263 Саранского лесничества, N54°08'10" E45°06'30") и в Коч-

куровском районе (кв. 133 Кочкуровского лесничества, N53°58'20" E45°31'10").

В республике вид впервые отмечен в окрестностях Саранска в 2012 г. (30 VIII) на почве среди лесной подстилки на окраине лесного массива с *Tillia cordata* Mill., *Qurecus robur* L., *Acer platanoides* L. и с подлеском из *Eunonymus verrucosa* Scop. и *Caragana arborescens* Lam. [4]. Были найдены 3 плодовых тела (из них два сросшихся, LE 311889). Последующий мониторинг этого местонахождения показал, что в 2013 г. (04 IX) было найдено 5 экз., в 2014 г. (15 IX) – 1, в 2015 г. (29 VIII) – 4, в 2016 г. (15 VIII) – 13 (LE 314971, 314976), (02 IX) – 3 экз. (LE 314972). В 2017 и 2018 гг. плодовые тела в этом локалитете не были отмечены. В 2019 г. в 2 срока были найдены 7 плодовых тел: 20 VIII – 4 экз., которые росли поодиночке на площади около 40 м², 29 VIII – 3 экз., росшие группой, в 2020 г. – 2 экз. (20 VIII), в 2021 г. – 4 экз. (31 VII и 20 VIII – по 1 экз., 22 VIII – 2 экз.). В сезон 2022 г. находок рубиноболета рубинового не было. В 2023 г. плодовые тела появлялись дважды (28 VIII и 28 IX): в первый срок 7 экз., во второй 4 экз.

3. *Caloboletus radicans* (Pers.) Vizzini (= *Boletus radicans* Pers.) – болет коренящийся. До 2023 г. в Мордовии было известно одно местонахождение (кв. 263 Саранского лесничества, N54°08'10" E45°06'30"). Впервые этот гриб был зафиксирован в 2015 г. (03 IX) на окраине лесного массива западнее пос. Ялга городского округа Саранск на почве среди лесной подстилки [5]. Было найдено одно плодовое тело (LE 314970). Последующий мониторинг локалитета показал, что в 2016 г. (02 IX) было найдено 9 плодовых тел (LE 314981), в 2017 г. там же в два срока (12 IX и 28 IX) на площади около 4 м² найдены 13 экз. (5 и 8 шт. соответственно). В 2018 г. плодовые тела болета коренящегося не наблюдались. В 2019 г. отмечено массовое плодоношение: 09 VIII были найдены 2 крупных экземпляра, изъеденные личинками грибных мух, 20 VIII на площади около 50 м² – 20 плодовых тел массой от 14 до 110 г, росшие группами по 3–5 шт., 29 VIII – 11 экз. В 2020 г. 26 VII были отмечены 3 экз., 20 VIII – 2 экз., 06 IX – 7 плодовых тел. В 2021 г. 31 VII были найдены 3 экз., 12 VIII – 14 плодовых тел, 22 VIII – 3 экз. В 2022 г. 12 VIII в ходе мониторинга были обнаружены всего 2 плодовых тела болета коренящегося.

В 2023 г. плодовые тела отмечались трижды – 27 VII (3 экз.), 9 VIII (2 экз.) и 24 VIII (2 экз.).

В 2023 г. 9 VIII было обнаружен еще один локалитет болета коренящегося – в пгт Ялга в сквере рядом с корпусом аграрного института Мордовского госуниверситета им. Н.П. Огарёва (N54°07'34"17 E45°07'21"18). Было обнаружено одно плодовое тело.

4. *Hemileccinum impolitum* (Fr.) Šutara (= *Boletus impolitus* Fr.) – полубелый гриб. В Мордовии известны несколько локалитетов макромицета – в Инсарском, Кочкуровском, Чамзинском и Рузаевском районах. В окрестностях г. Саранск отмечены два местонахождения – в 2 км к востоку-юго-востоку от пгт Ялга в приовражной дубовой лесополосе недалеко от пруда с местным топонимом «Карьер» (N54°06'54" E45°09'46") и в кв. 263 Саранского лесничества (N54°08'10" E45°06'30").

Мониторинг локалитета в кв. 263 был начат в 2018 г., когда 18 VIII впервые были обнаружены 2 плодовых тела. В 2019 г. 15 VII там же были найдены 4 экз., 29 VIII – 3 плодовых тела, 26 IX – 1 экз. В 2020 г. 26 VII и 20 VIII были отмечены по одному плодовому телу, 25 VIII – 2 экз., 06 IX – 7 экз. В 2021 г. плодовые тела не были обнаружены, в 2022 г. (22 VII) был найден всего один экземпляр полубелого гриба. В 2023 г. в процессе мониторинга краснокнижных грибов полубелый гриб не отмечался.

В 2023 г. был обнаружен новый для микобиоты Мордовии вид макромицета – *Leccinellum crotipodium* (Letell.) Della Magg. & Trassin., 2014 (= *Boletus crocipodius* Letell.. 1839; = *Boletus nigrescens* Richon & Roze, 1888; = *Leccinum nigrescens* Singer, 1947; = *Leccinum crotipodium* (Letell.) Watling, 1961) – **обабок (подосиновик) шафраноножковый, или чернеющий**. Его плодовые тела были найдены в кв. 262 Саранского лесничества (N54°08'17"21 E45°06'26"64) 9 VIII и 28 VIII (по одному экз., имеются фото; гербарные образцы отправлены в БИН им. В.Л. Комарова для LE) среди лесного опада в широколиственном лесу (дуб с примесью клена и липы). Этот гриб достаточно редок. В районе исследований находится на северной границе ареала, проходящей через Пензенскую и Ульяновскую области. Занесен в Красную книгу Пензенской области [6]. Считается микоризным симбионтом дуба и бука [7, 8].

В табл. приведены сводные сведения мониторинга редких грибов.

Табл. 1. Результаты мониторинга редких грибов в окрестностях г. Саранск

Таксон	2007 г.	2008 г.	2009 г.	2010 г.	2011 г.	2012 г.	2013 г.	2014 г.	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.	2020 г.	2021 г.	2022 г.	2023 г.
<i>Saproamanita vittadinii</i>	+	+	+	–	+	+	+	–	–	+	–	–	–	–	–	–	+
<i>Rubinoboletus rubinus</i>						+	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+
<i>Caloboletus radicans</i>									+	+	+	–	+	+	+	+	+
<i>Hemileccinum impolitum</i>												+	+	+	–	+	–
<i>Leccinellum crotipodium</i>																	+

Таким образом, за весь период наблюдений состояние локалитетов и появление плодовых тел *Rubinoboletus rubinus*, *Caloboletus radicans* и *Hemileccinum impolitum* можно считать удовлетворительными.

В процессе мониторинга найден на северной границе его естественного ареала новый для Республики

Мордовия вид – *Leccinellum crotipodium*. Этот гриб может считаться кандидатом для включения в очередное, третье издание Красной книги Республики Мордовия, с категорией 3 – редкий вид. Необходим поиск других локалитетов этого и других редких макромицетов.

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. *Amanita vittadinii* в Республике Мордовия. Совр. микол. в России. Том 3. М., 2012: 110–111.
4. Ивойлов А.В., Большаков С.Ю. О новой находке *Rubinoletus rubinus* в России. Изв. Самарского науч. центра РАН. 2015; 17(4): 67–71.

5. Ивойлов А.В. *Caloboletus radicans* (Pers.) Vizzini. (Boletaceae) в Республике Мордовия. Изв. Самарского науч. центра РАН. 2018; 20(5)3: 427–432.
6. Красная книга Пензенской области. Том 1. Грибы, лишайники, мхи, сосудистые растения / науч. ред. А.И. Иванов. Изд. 2-е. Пенза. 2013: 300.
7. Иванов А.И. Агарикомицеты Приволжской возвышенности. Порядок Boletales. Пенза : РИО ПГСХА. 2013: 178.
8. Саркина И.С. Макромицеты буковых лесов Горного Крыма. Экосистемы. 2020; 24: 5–26.

МИКОБИОТА СФАГНОВЫХ БОЛОТ НА ПРИМЕРЕ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Качмашева О. А., Потапов К.О.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Грибы – группа организмов, которая находится во всех биологических нишах и на всех типах субстратов. Они значимы в экологии всей биосферы благодаря разложению органических материалов, и способствуя образованию плодородных почв [1].

Территории болот имеют особые условия обитания: низкие значения кислотности и температуры, низкое содержание кислорода, вследствие чего затруднено участие микроорганизмов в разложении растительных остатков. Особенно устойчивы к данному типу условий – сфагнумы, которые являются ведущими видами мхов на болотах [2]. Сфагновые мхи создают нетипичные условия для жизни других организмов, в том числе редуцентов. Фенольные соединения в их химическом составе являются токсичными для большинства микроорганизмов, но именно для грибов отмечена способность первичного разложения мхов. Бактерии и дрожжи поселяются на продуктах разложения мхов грибами, и, используя эти продукты, подвергают их дальнейшей деградации [2].

В настоящий момент биоразнообразие грибов на болотистой местности и их роли в болотных экосистемах посвящено немало работ [3,4,5,6,7,8]. Подобные исследования набирают популярность в связи с выяснением роли микоченоза в глобальном цикле углерода и моделях последствий изменения климата [9,10,11].

Целью исследования, которое начато в 2021 году, стало выявление разнообразия базидиальных макромицетов сфагновых болот на границе природных зон территории Республики Татарстан. Микоченозы в данном типе природных сообществ в регионе целенаправленно изучаются впервые. Плодовые тела собирались маршрутным методом. Исходным материалом для работы послужили сборы базидиальных грибов. Также была использована база данных «Fungi of Tatarstan», в которой собраны материалы со сфагновых болот за 2012-2019 годы. Сбор макромицетов осуществлялся по общепринятой методике [12].

Общее видовое богатство составило 82 вида, относящихся к 7 порядкам, 31 семейству, 50 родам. Доминирующим по количеству видов является порядок *Agaricales* (33 вида), что объясняется, в том числе, редким древостоем или его отсутствием, а это в свою очередь обуславливает незначительное количество валежного субстрата и его низкое породное разнообразие. Отсутствие валежа, в т.ч. купномерного, обуславливает низкое разнообразие порядков *Polyporales* и *Fomitopsidales*. По числу видов лидирующим семейством является семейство *Russulaceae*, которое включает 11 видов, а также род *Lactarius*, который включает в себя 9 видов.

Наибольшее разнообразие грибов представлено на сфагново-торфяном субстрате (103 встречи), к валежу относится 36 встреч. Виды, приуроченные к древесному субстрату, являются скорее транзитными и не специфичны для болотных экосистем. Большинство из них, например, такие как *Fomitopsis pinicola*, *F. betulina*, *Schizophyllum commune*, *Daedaleopsis confragosa*, *Bjerkandera adusta*, *Trichaptum bifforme*, *T. fuscoviolaceum*, *Ganoderma applanatum* и др., являются фоновыми лесными видами и широко представлены в лесных экосистемах региона.

Из обнаруженных видов 13 встречаются регулярно на заболоченных территориях: *Amanita fulva*, *Lyophyllum palustre*, *Galerina paludosa*, *Lactarius helvus*, *Lactarius scoticus*, *Lactarius uvidus*, *Lactarius tabidus*, *Lactarius vietus*, *Russula paludosa*, *Leccinum holopus*, *Leccinum schistophilum*, *Leccinum variicolor*, *Gomphidius roseus*, *Suillus bovinus*. Все они относятся к группе агарикоидных базидиомицетов. Виды рода *Lactarius* обладают широкой амплитудой и способны произрастать во влажных лесах, то же касается *S. bovinus* и *G. roseus*. Однако, например, представители рода *Leccinum*: *L. holopus*, *L. schistophilum*, *L. variicolor* на территории Республики Татарстан являются типично болотными видами. Многие виды, характерные для территории болот, являются редкими, так как приурочены к специфическим условиям.

В ходе работы были выявлены 2 вида, входящие в Красную книгу Республики Татарстан: *Ischnoderma resinotum* и *Pseudohydnum gelatinosum*. *Suillus flavidus* обнаруженный нами в 2022 и 2023 году, ранее отмечался лишь в прошлом столетии Васильевой Л. Н., в настоящий момент также предложен к охране. Помимо этого, встречен один вид, не включенный в Красную книгу Республики Татарстан, но нуждающийся на территории республики в постоянном наблюдении – *Cortinarius caperatus*.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, проект № FZSM-2024-0004.

Список литературы

1. Афанасьев А. А. Микология: учебное пособие для вузов – Воронеж: Издательско-полиграфический центр Воронежского государственного университета, 2012. – 131 с.
2. Добровольская Т. Г., Кухаренко О. С., Головченко А. В. Особенности таксономического состава бактериальных комплексов торфяников разного генезиса Болота и биосфера: Сб. матер. IV Науч. школы Томск: ЦНТИ, 2005. — 174 с.

3. Грум-Гржимайло О. А., Биланенко Е. Н. Микроскопические грибы как компонент экосистемы верховых болот Микология и фитопатология, 2010. — 496 с.
4. Грум-Гржимайло, О. А. Микромицеты заболочивающихся водоемов побережья Кандакшского залива Белого моря: канд. биол. наук. — Москва: изд-во «Гриф и К», 2013. — 239 с.
5. Филиппова, Н. В. Сообщества грибов верховых болот средней тайги Западной Сибири: диссерт. канд. биол. Наук — Новосибирск, 2015. — 392 с.
6. Thormann, M. N. The Role of Fungi in Boreal Peatlands. Boreal Peatland Ecosystems Ecological Studies; eds. R.K. Wieder et al. — Berlin: Springer, 2006. — 123 с.
7. Salo, K. The composition and structure of macrofungus communities in boreal upland type forests and peatlands in North Karelia, Finland. Karstenia, 1993. — 62 с.
8. Nilsson M., Beeth E., Soderstrom B. The microfungal communities of a mixed mire in northern Sweden / Can. J. Bot, 1992. — 373 с.
9. Грум-Гржимайло О. А. и соавт. Актуальные направления в изучении грибов северных торфяных болот в связи с изменением климата и таянием многолетней и вечной мерзлоты Вестник Российского фонда фундаментальных исследований. 2020. — 113 с.
10. Мухин В. А., Воронин П. Ю. Микогенное разложение древесины и эмиссия углерода в лесных экосистемах Экология. 2007. — 29 с.
11. Perkins S. Fungi and roots store a surprisingly large share of the world's carbon / S. Perkins, 2013.
12. Бондарцев А. С. и Зингер Р. А. Руководство по сбору высших базидиальных грибов для научного их изучения. — Москва; Ленинград: Акад. наук СССР, 1950. — 45 с.

НОВЫЕ НАХОДКИ ОХРАНЯЕМЫХ ВИДОВ ГРИБОВ В ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Капитонов В.И.

Тобольская комплексная научная станция УрО РАН

Второе издание Красной книги Тюменской области, опубликованное в 2020 году, включает 20 видов из числа базидиальных и сумчатых грибов [1]. В ходе микологических исследований на территории области нами выявлены новые локалитеты охраняемых видов макромицетов. Собранные образцы грибов хранятся в гербарии ТКНС УрО РАН (ТОВ). Ниже в алфавитном порядке приводится список видов с указанием этикеточных данных. Латинские названия таксонов и категории их статуса редкости приведены согласно региональной Красной книге.

Arrhenia discorosea (Pilát) Zvyagina, A.V. Alexandrova & Bulyonk. Категория 4 – неопределенный по статусу вид.

Тюменская область, г. Тобольск, микрорайон Панин бугор, березняк осочково-разнотравный с примесью *Populus tremula* и *Tilia cordata*, на трухлявом замшелом стволе *Populus tremula*. 25.05.2020. ТОВ 1420827. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Тюменская область, Вагайский район, в 10 км к юго-востоку от д. Истяцкая, осинник разнотравный с примесью *Betula sp.* и *Tilia cordata*, на трухлявом замшелом стволе *Populus tremula*, ТОВ 1450935. 09.06.2020. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Тюменская область, г. Тобольск, экотропа СИБУРА, осиново-березовый лес с примесью *Pinus sylvestris*, на трухлявом валежном стволе *Populus tremula*. 09.07.2023. ТОВ 1950718. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Favolus pseudobetulinus (Murashk.ex Pilát) Sotome & T. Hatt. Категория 3 – редкий вид.

Тюменская область, Вагайский район, в 2,6 км к ССВ от д. Кобякская (урочище Кобякское болото), заболоченный березняк мохово-вахтово-осоковый, на стволе сухостойной *Salix pentandra*. 25.06.2019. ТОВ 1874. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Тюменская область, Тобольский район, в 2,5 км к северу от д. Михайловка (урочище Чистое болото), зарастающий ивняком выработанный дренированный участок торфоразработки, на валежном стволе *Salix*

pentandra. 01.07.2019. ТОВ 1929. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Тюменская область, Тобольский район, окрестности пос. Прииртышский, березняк разнотравный с примесью *Populus tremula* и *Tilia cordata*, на стволе сухостойной *Populus tremula*. 13.07.2019. ТОВ 3343. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst. Категория 3 – редкий вид.

Тюменская область, Тобольский район, окрестности д. Михайловка, ельник-пихтарник с примесью *Betula sp.*, *Populus tremula*, *Tilia cordata*, *Pinus sylvestris* и *P. sibirica*, на трухлявом пне *Abies sibirica*. 22.06.2021. ТОВ 1670817. Leg. В.И. Капитонов. Det. В.И. Капитонов.

Тюменская область, Уватский район, окрестности с. Горнослинкино, ельник-пихтарник зеленомошный, на трухлявом замшелом пне *Abies sibirica*. 30.06.2023. ТОВ 1940745. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Gomphus clavatus (Pers.) Gray. Категория 3 – редкий вид.

Тюменская область, г. Тобольск, микрорайон Панин бугор, березняк зеленомошно-осочково-кустарничковый с примесью *Populus tremula*, *Tilia cordata* и *Pinus sylvestris*, на почве. 04.09.2022. ТОВ 1840763. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Pleurotus dryinus (Pers.) P. Kumm. Категория 4 – неопределенный по статусу вид.

Тюменская область, г. Тобольск, нижний посад, пустырь на месте заброшенного дома, на спиле валежного ствола *Ulmus laevis*, 14.08.2021. ТОВ P1720657. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Тюменская область, Казанский район, в 2,6 км к северо-западу от д. Новоалександровка, березово-осиновый колок, на трухлявом пне *Populus tremula*. 13.09.2023. ТОВ 2070631. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Pluteus fenzi (Schulzer) Corriol & P.-A. Moreau. Категория 3 – редкий вид.

Тюменская область, Вагайский район, в 10 км к юго-востоку от д. Истяцкая, осинник разнотравный с

примесью *Betula sp.* и *Tilia cordata*, на замшелом валежном стволе *Tilia cordata*. 08.06.2020. ТОВ P1450801. Leg. В.И. Капитонов. Det. В.И. Капитонов.

Тюменская область, Тобольский район, в 2,8 км к ЮЗЗ от д. Елань, ельник с примесью *Betula sp.* и *Abies sibirica*, на валежном стволе *Betula sp.* 20.08.2021. ТОВ P1690905. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Тюменская область, Тобольский район, в 2,4 км к западу от д. Елань, липняк осочковый с примесью *Betula sp.* и *Populus tremula*, на трухлявом валежном стволе *Tilia cordata*. 21.07.2021. ТОВ P1700221. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Polyporus rhizophilus Pat. Категория 3 – редкий вид.

Тюменская область, Ишимский район, окрестности д. Орловка, остепненный склон южной экспозиции, в основании стеблей ковыля (*Stipa sp.*). 20.06.2018. ТОВ 8718. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Sarcosoma globosum (Schmiedel) Casp. Категория 3 – редкий вид.

Тюменская область, Тобольский район, в 1,3 км к востоку от завода «Тобольск-Полимер», ельник-пихтарник зеленомошный с примесью *Pinus sibirica*, на почве среди зеленых мхов. 05.06.2018. ТОВ 7715. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Тюменская область, г. Тобольск, микрорайон Защитино, ельник-пихтарник зеленомошный с примесью *Betula sp.* и *Populus tremula*, на почве среди зеленых мхов. 07.06.2018. ТОВ 8117. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Тюменская область, Тобольский район, окрестности с. Верхние Аремзяны, ельник-пихтарник зеленомошный с примесью *Pinus sylvestris* и *P. sibirica*, на почве среди зеленых мхов. 21.05.2020. ТОВ 1410982. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Tyromyces fumidiceps G.F. Atk. Категория 4 – неопределенный по статусу вид.

Тюменская область, Тобольский район, окрестности д. Веснина, ивняк в правобережной пойме р. Иртыш, на валежном стволе *Salix fragilis*. 22.07.2021. ТОВ 1700433. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Тюменская область, Тобольский район, окрестности пос. Прииртышский, ивняк в правобережной пойме р. Иртыш, на валежном стволе *Salix fragilis*. 25.07.2021. ТОВ 1700835. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Тюменская область, г. Тобольск, район Жуковского водозабора, ивняк в правобережной пойме р. Иртыш, на валежном стволе *Salix fragilis*. 30.07.2021. ТОВ 1710727. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Тюменская область, г. Тобольск, нижний посад, ивняк в правобережной пойме р. Иртыш, на валежном стволе *Salix alba*. 07.08.2021. ТОВ 0018. Leg. и det. В.И. Капитонов.

Список литературы

1. Красная книга Тюменской области: Животные, растения, грибы. / Отв. ред. О.А. Петрова.
2. Изд. 2-е. – Кемерово: ООО «ТЕХНОПРИНТ», 2020. – 460 с.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МИКОБИОТЫ АФИЛЛОФОРОИДНЫХ ГРИБОВ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ АБХАЗИИ

Хачева С.И.

Абхазский Государственный университет, Сухум
Институт экологии Академии наук Абхазии, Сухум

Афиллофороидные грибы благодаря уникальной способности к разложению лигноцеллюлозного комплекса, осуществляют деструкцию древесины на разных стадиях ее разложения. Некоторые из них поражают живые стволы и корни различных древесных пород. Меньшее число видов обитает на почве, часть из них образует эктомикоризу с древесными и кустарниковыми растениями [1].

Целью настоящих исследований являлось изучение биоразнообразия и проведение эколого-ценотического анализа микобиоты лесных экосистем особо охраняемых природных территорий (ООПТ) Абхазии.

Республика Абхазия, занимающая южные склоны западного Закавказья и северную часть Колхидской низменности, характеризуется особенно резко выраженной вертикальной дифференциацией климатических зон и исключительным разнообразием климатических условий, сильно связанных с пересеченным горным рельефом. В настоящей работе вертикальные зоны растительного покрова Абхазии приводятся согласно работе Куфтыревой Н. С. [2]:

Зона растительности низменной полосы (от 0 до 30 м над уровнем моря), представленная светлохвойными лесами из сосны пицундской (*Pinus pityusa* Stev.)

Зона низовых и предгорных колхидских лесов (от 30 до 650-700 м над уровнем моря), представленная широ-

колиственными листопадными лесами из дуба (*Quercus iberica* Stev.), граба (*Carpinus caucasia* Grossh), каштана (*Castanea sativa* Mill.). В долинах рек второй ярус грабового леса представлен самшитом (*Buxus colchica* Pojark.).

Зона горных лесов (от 650 до 1800-2200 м над уровнем моря). Основные растительные формации: буково-пихтовые, пихтовые, буковые леса, лесообразующие породы представлены буком восточным (*Fagus orientalis* Lipsky) и пихтой кавказской (*Abies nordmanniana* (Stev.) Spach).

Зона субальпийских криволесий, кустарников, высокоотравья (от 1800 до 2200-2400 м над уровнем моря). Для субальпийского пояса характерно буковое криволесье, на освещенных склонах сопутствующим является березовое криволесье. Эдификаторами данного пояса являются бук восточный и береза Литвинова (*Betula litwinowii* A. Dol).

Исследования, проводились во всех высотных лесорастительных поясах и были сосредоточены на (ООПТ) Республики Абхазия: Пицунда-Мюссерском заповеднике и Рицинском Реликтовом Национальном парке (РРНП). В состав Пицунда-Мюссерского заповедника входят сосновая и самшитовая рощи, нагорные дубравы и Мюссерский лесной массив, представленный дубово-грабовыми, каштаново-грабовыми лесными формациями [3]. РРНП расположен на южном склоне

западной части Большого Кавказа в высотном интервале от 107 до 3256 м над ур. м. Закономерность распределения основных лесообразующих пород парка в зависимости от высоты над уровнем моря, экспозиции, крутизны склонов и других условий выражается в определенном поясном распределении лесных формаций [4]. Буково-пихтовые леса из бука восточного и пихты кавказской являются главными формациями парка. Сопутствующими породами в нижней части зоны являются граб, каштан, клены, липа, ясень, ильм, самшит и ряд других. В верхней части пояса пихте сопутствует ель, появляются березы. Инвентаризация биоты афиллофороидных грибов лесных формаций ООПТ Абхазии проводилась по стандартным методикам [5].

Распространение грибов на территории заповедника и национального парка рассматривалось по основным типам местообитаний (сосняк, дубово-грабовые, каштаново-грабовые, грабово-самшитовые, буково-пихтовые леса и субальпийское криволесье). Максимальное количество видов выявлено в буково-пихтовых (153 вида), дубово-грабовых лесах (110 видов), меньшее видовое разнообразие зарегистрировано в каштаново-грабовых лесах (60 видов) и сосняке (45 видов). В поясе субальпийского криволесья отмечено 35 видов, наименьшее число видов обнаружено в грабово-самшитовых лесных формациях (15 видов). Для установления степени сходства и отличия видового состава рассчитывались бинарные коэффициенты Сёренсена - Чекановского (англ. Sørensen - Čekanowsky Index) и Стургена - Радулеску (англ. Stogran - Radulesku Index) [6] для каждой сравниваемой пары лесных формаций (табл. 1).

Табл. 1. Коэффициенты сходства (C_{sc}) и отличия (p) видового состава афиллофороидных грибов лесных экосистем Абхазии.

Растительные формации (количество видов)	С	ДГ	КГ	ГС	БП	СК
С	45	0,24	0,24	0,03	0,22	0,27
ДГ	0,72	110	0,56	0,12	0,37	0,33
КГ	0,71	0,21	60	0,26	0,31	0,31
ГС	0,96	0,86	0,69	15	0,05	0,04
БП	0,75	0,54	0,62	0,93	153	0,29
СК	0,68	0,6	0,62	0,95	0,65	35

Примечание: выше диагонали указаны значения C_{sc} , а ниже - значения p , для соответствующих пар; С – сосняк; ДГ – дубово-грабовые леса; КГ – каштаново-грабовые леса; ГС – грабово-самшитовые леса; БП – буково-пихтовые леса; СК – субальпийское криволесье.

Анализ сходства видового состава грибов в разных типах леса показал, что наибольшее значение наблюдается между микобиотами дубово-грабовых и каштаново-грабовых формаций ($C_{sc} = 0,56$), что объясняется схожестью лесообразующих пород и разнообразным доминированием на разных высотах дуба, граба, каштана и бука. Так как, афиллофороидные грибы тесно связаны с древесным субстратом, то одни и те же виды могут встречаться на различных листовых породах, тем самым выходя за пределы ареала предыдущего хозяина. Пределы значений сходства сравниваемых лесных экосистем невысоки, что также подтверждают значения коэффициента отличия Стургена – Радулеску. Полученные данные свидетельствуют о специфичности видового состава исследованных формаций. Необходимо от-

метить, что наименьшие коэффициенты сходства ($C_{sc} = 0,03-0,26$) характерны для грабово-самшитовых лесов. К сожалению, на сегодняшний день эти леса утрачены, ввиду проникновения в Абхазию самшитовой огневки в 2014 году. Самшит как субстрат, характеризуется специфичностью видового состава грибов, здесь отмечается небольшое количество видов: *Amphinema byssoides* (Pers.) J. Erikss., *Byssomerulius corium* (Pers.) Parmasto, *Peniophora cinerea* (Pers.) Cooke, *P. laeta* (Fr.) Donk, *Xylodon nespори* (Bres.) Hjortstam et Ryvarden и другие.

Для каждой растительной формации характерно присутствие видов, имеющих максимальную экологическую валентность: *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst., *Podofomes mollis* (Sommerf.) Gorjón, *Resiniporus resinascens* (Romell) Zmitr., *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat., *Trametes gibbosa* (Pers.) Fr., *Trichaptum biforme* (Fr.) Ryvarden и другие. В сосняке лидирующие позиции занимают *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst., *Fuscoporia ferruginosa* (Schrad.) Murrill, *Phaeolus schweinitzii* (Fr.) Pat., *Porodaedalea pini* (Brot.) Murrill. В широколиственных лесах, ядро микобиоты составляют: *Daedalea quercina* (L.) Pers., *Daedaleopsis tricolor* (Bull.) Bondartsev et Singer, *Ganoderma resinaceum* Boud., *Hymenochaete rubiginosa* (Dicks.) Lév., *Trichaptum biforme*, *Stereum gausapatum* (Fr.) Fr., *S. subtomentosum* Pouzar. Буково-пихтовые леса характеризуются присутствием видов с минимальной экологической валентностью: *Antrodia albida* (Fr.) Donk, *Antrodiella fissiliformis* (Pilát) Gilb. et Ryvarden, *Hypochnicium caucasicum* Parmasto, *Perenniporia medulla-panis* (Jacq.) Donk, *Poriella subacida* (Peck) C. L. Zhao, *Resinoporia crassa* (P. Karst.) Audet, *Poriella subacida* (Peck) C. L. Zhao, *Phellinus chrysoloma* (Fr.) Donk, *Hermanssonia centrifuga* (P. Karst.) Zmitr., *Postia ptychogaster* (F. Ludw.) Vesterh., *Rigidoporus crocatus* (Pat.) Ryvarden и другие. В субальпийском криволесье узкоспециализированные виды отмеченные на древесине березы, представлены ниже: *Fomitopsis betulina* (Bull.) B. K. Cui, M. L. Han et Y. C. Dai, *Lenzites betulinus* (L.) Fr., *Phellinus betulinus* (Murrill) Parmasto, *Ph. lundellii* Niemelä, *Tyromyces kmetii* (Bres.) Bondartsev et Singer.

Таким образом, в сложении общего видового состава афиллофороидных грибов каждой растительной формации участвуют как виды, проявляющие широкую экологическую пластичность, так и специфичные виды, отмеченные исключительно в данных формациях.

Список литературы

1. Бондарцева М. А. Эколого-биологические закономерности функционирования симбиотрофных базидиомицетов в лесных экосистемах // Грибные сообщества лесных экосистем: материалы координационных исслед. 2000. – С. 9 - 25.
2. Куфтырева Н. С., Лашхия Ш. В., Мгеладзе К. Г. Природа Абхазии. Сухуми: Абгосиздат. 1961. 342 с.
3. Колаковский А. А., Бебия С. М., Урушадзе Г. Ф. и др. Пицунда-Мюссерский заповедник/под ред. С. М. Бебия. М.: Агропромиздат, 1987. 190 с.
4. Колаковский А. А. Растительный мир Колхиды. М.: Издательство МГУ, 1961. 459 с.
5. Бондарцев А. С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа// Под. Ред. В. П. Савич. М. – Л., Изд-во. АН СССР, 1953. 1106 с.
6. Леонтьев Д. В. Флористический анализ в микологии: учебник для студентов высших учебных заведений. - Харьков, Изд-во ПП «Ранок-НТ», 2008. -110 с.

РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОМИЦЕТОВ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ БУГРИСТЫХ БОЛОТ В ГОРНЫХ ЛАНДШАФТАХ ПРИПОЛЯРНОГО УРАЛА

Ковалева В.А., Виноградова Ю.А., Лаптева Е.М., Денева С.В., Перминова Е.М.
Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар

Условия, сформировавшиеся в торфяной залежи, определили превалирование микроскопических грибов в разнообразии микробных сообществ (Andersen et al., 2006). Почвенные микромицеты имеют физиологическую и метаболическую адаптацию к низким температурам и концентрации кислорода, кислой реакции среды, недостатку питательных элементов в торфяниках, и, кроме этого, они участвуют в разложении сложных полимеров органического вещества с помощью синтеза внеклеточных ферментов (Golovchenko et al., 2013). В горных ландшафтах Урала болотные экосистемы, по сравнению с равнинными, занимают незначительные территории, но они представлены практически во всех высотных поясах. В отличие от торфяников равнинных территорий формирование мерзлотных бугристых болот в условиях Приполярного Урала связано как с историей торфонакопления, так и с геологическими процессами и процессами аллювиальной седиментации, что обуславливает наличие в толще торфяной залежи минеральных прослоек. При этом болота Урала слабо изучены как с точки зрения их типологии, характеристики растительности, так и оценки почвообразовательных процессов. Территории Приполярного Урала представляют собой огромное многообразие болотных комплексов депрессий и склонов. Бугристые болота Приполярного Урала приурочены к районам с суровым климатом и наличием многолетнемерзлых грунтов. В торфяных отложениях и многолетнемерзлых торфах таких экосистем законсервировано значительное количество органического углерода (Pastykhov et al., 2022). Именно такие болотные экосистемы, развивающиеся в экстремальных условиях, имеют высокий потенциал видового разнообразия почвенных микроорганизмов, определяющих функционирование болот в глобальном масштабе. Исследования проводили на территории Республики Коми в горных ландшафтах Приполярного Урала (северная часть национального парка «Югыд ва»). Болотные массивы на Приполярном Урале относительно невелики по размерам. Бугристые болота приурочены чаще всего к крупным межгорным котловинам, обычно связаны с долинами рек, петляющих по плоскому дну котловин, обязательным при этом является наличие мерзлых грунтов. Объектами исследования послужили два болотных массива, приуроченных к межгорной долине реки Балбанью. Болото I расположено у подножия склона горы Старик-из ($65^{\circ}10'20.8''$ с.ш., $60^{\circ}14'16.9''$ в.д.), Болото II расположено на надпойменной террасе в межгорной долине реки ($65^{\circ}11'47.2''$ с.ш., $60^{\circ}13'31.8''$ в.д.). Образцы торфа для изучения состава и структуры комплекса культивируемых микроскопических грибов отбирали из мочажин Болота I и Болота II и опорных разрезов на торфяных буграх Болота I и Болота II (профиль а и профиль б) в соответствии с общепринятыми методиками и соблюдением стерильных условий (Кураков, 2001). Выделение микроскопических грибов проводили методом посева из серийных разведений на агаризованные среды (среда Чапека, сусло-агар, среда Сабуро) в пятикратной повторности для каждого образца (Методы..., 1991). Численность культивируемых грибов выражали в колонии образующих единицах в расчете на грамм абсолютно сухой почвы (КОЕ/г а.с.п.). Отдельные колонии грибов

отсеивали, начиная с 5-х суток, окончательный учет колоний микромицетов проводили на 7-10-е сутки. Среди изученных профилей максимальными значениями общей численности микромицетов отличается слой живых мхов почвы торфяного бугра Болота I – 242.0 ± 66.2 тыс. КОЕ/г а.с.п. В аналогичных слоях профилей Болота II-а и Болота II-б численность микромицетов значительно ниже и составляет – 41.7 ± 14.4 и 81.2 ± 6.8 тыс. КОЕ/г а.с.п. соответственно. Это может быть обусловлено специфической расположением болотных комплексов в ландшафте и различиями в их теплообеспеченности: Болото I занимает подножие восточного, более прогреваемого, склона горного массива, Болото II находится в тени северо-западного склона. Наиболее низкими значениями численности микромицетов характеризуются мочажины. В мочажине Болота I численность микромицетов – 28.6 ± 7.1 тыс. КОЕ/г а.с.п., в мочажине Болота II – 32.9 ± 25.5 тыс. КОЕ/г а.с.п. Благодаря значительному пространственному варьированию, численность грибов в верхнем слое (0-20 см) сфагнового торфа мочажин достоверно не различается в рассмотренных болотных комплексах. В результате исследования установлены закономерности видового разнообразия культивируемых микромицетов в торфяных почвах бугристых болот Приполярного Урала. Показано, что сообщества микроскопических грибов представлены 61 видом из 15 родов, включая стерильный мицелий. Большая часть выделенных грибов относится к отделу *Ascomycota* (43 вида из 10 родов), в котором все выделенные грибы анаморфные, не способные к образованию телеоморфы в культуре. Отдел включает виды из 6 порядков: *Dothideales*, *Eurotiales*, *Helotiales*, *Hypocreales*, *Saccharomycetales*, *Thelebolales*. Доминирует по числу видов род *Penicillium* (21 вид). Отдел *Mucoromycota* представлен 17 видами из 5 родов и двух порядков – *Mortierellales* и *Mucorales*. Сообщества микромицетов торфяных почв бугристых болот Приполярного Урала характеризуются высокими значениями индекса видового разнообразия. Из торфяной залежи (торфяной бугор и мочажина) Болота I выделено 39 видов из 10 родов, а из Болота II – 58 видов из 14 родов. Комплексы почвенных микромицетов представлены преимущественно редкими и случайными видами. Группа доминантов по частоте встречаемости представлена видом *Pseudogymnoascus pannorum* и стерильным мицелием. Наиболее обильны в слое живых мхов – *Penicillium spinulosum* (17%), *P. thomii* (18%), *Talaromyces funiculosus* (19%). В сезонно-талых слоях торфа высоким обилием характеризуются виды: *Pseudogymnoascus pannorum* (11%), *Talaromyces funiculosus* (14%) и стерильный мицелий (16%). В минеральных слоях доминирующим по обилию является *Pseudogymnoascus pannorum* (78%), а в мерзлых слоях торфа обнаружены только единичные колонии стерильного мицелия. Комплексы микромицетов бугристых болот Приполярного Урала представлены как эвритопными видами, так и видами, характерными для торфяных почв разных природных зон: *Mortierella alpina*, *Mucor hiemalis*, *Umbelopsis ramanniana*, *U. vinacea*, *Penicillium granulatum*, *P. lividum*, *P. spinulosum*, *P. thomii*, *Trichoderma hamatum*, *T. harzianum*, *T. konigii*, *T. viride*, *Oidiodendron griseum*, *O. maius* и *O. tenuissimum*. Среди доминантов по обилию встречаются типичные представители торфяных залежей, участвующие в разло-

жении сфагновых мхов – *Mortierella alpina*, *Mucor hiemalis*, *Umbelopsis ramanniana*, *U. vinacea*, *Penicillium granulatum*, *P. spinulosum*, *P. thomii*, *Talaromyces funiculosus*. При сравнении сообществ микромицетов торфяных почв бугристых болот выявлена высокая степень сходства видовых составов. При этом комплексы микромицетов бугристых болот имеют свою специфичность. Так, в профиле Болота II–а выявлено высокое обилие видов рода *Trichoderma* и в целом более высокое видовое разнообразие в отличие от двух других биотопов, что, возможно, связано с разнообразием растительного покрова в пределах одного болота в разные периоды формирования торфяной залежи. Выполнение данной работы позволило получить новый уникальный материал, существенно расширяющий представление о видовом разнообразии торфяных почв. Исследование микромицетов бугристых болот Приполярного Урала в дальнейшем может помочь в характеристике и обосновании процессов функционирования бугристых болотных экосистем в северо-восточном секторе европейской Арктики. Однако выявленный видовой состав микромицетов в торфяных почвах бугристых болот нельзя считать полным как из-за пространственной ограниченности исследований, так и вследствие вариативности видового богатства и структуры грибных сообществ в зависимости от структуры и состава торфяной залежи, характера и истории ее возникновения. Поэтому дальнейшие исследования сообществ почвенных микромицетов бугристых болот высоких широт криолитозоны остаются весьма актуальными.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН:

«Криогенез как фактор формирования и эволюции почв арктических и бореальных экосистем европейского Северо-Востока в условиях современных антропогенных воздействий, глобальных и региональных климатических трендов» (№ 122040600023–8).

Список литературы

1. Andersen R., Francez A.-J., Rochefort L. The physicochemical and microbiological status of a restored bog in Quebec: identification of relevant criteria to monitor success. *Soil Biology & Biochemistry*. 2006. V. 38. P. 1375–1387.
2. Golovchenko A.V., Kurakov A.V., Semenova T.A., Zvyagintsev D.G. Abundance, diversity, viability, and factorial ecology of fungi in peatbogs. *Eurasian Soil Science*. 2013. V.46 (1). P. 74–90.
3. Pastukhov A., Kovaleva V., Kaverin D. Microbial community structure in ancient European Arctic peatlands. *Plants*. 2022. V. 11 (20). P. 2704–2714.
4. Кураков А.В. Методы выделения и характеристики комплексов микроскопических грибов наземных экосистем: учебно-методическое пособие. М.: МАКС Пресс, 2001. 92 с.
5. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: МГУ, 1991. 304 с.

МИКОБИОТА ВЫСОКОГОРНЫХ ЛЕСОВ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА ИЗ *BETULA L.* И *PINUS HAMATA D. SOSN.*

Крапивина Е.А., Козьминов С.Г.

Кабардино-Балкарский государственный университет, Нальчик

Природные экосистемы Центрального Кавказа является одним из уникальных уголков по богатству биологического разнообразия растений и грибов, он является одним из признанных центров видообразования, что показано в научных изысканиях известных исследователей (Буш, 1935; Гроссгейм, 1936, 1948; Галушко, 1969; Харадзе, 1960, 1972; Шхагапсоев, Кушалиева, Крапивина, 2023).

Высокогорные березняки распространены на склонах Бокового, Главного Кавказского и отчасти Скалистого хребтов, особенно в бассейне реки Малки. Верхний предел леса образован субальпийскими березняками. Эдификаторами березовых лесов являются *Betula pendula* Roth, *B. litwinowii* Doluch., *B. raddeana* Trautv.. В роли субдоминанта часто выступает сосна, реже – лиственные породы. Обычными спутниками берез в древесном ярусе являются *Populus tremula* L., *Salix caprea* L., *Sorbus aucuparia* L., *Acer platanoides* L., *Alnus incana* (L.) Moench, *Pinus kochiana* Klotzsch ex C. Koch.

Березняк травяной распространен на высоте 1700–2000 м. В древесном ярусе значительна примесь других пород – *Pinus kochiana* Klotzsch ex C. Koch., *Salix caprea* L., *Acer platanoides* L., *A. trautvetteri* Medw., *Populus tremula* L.. Выделяется среди остальных типов леса многовидовым травяным ярусом и хорошо выраженным подлеском средней густоты из *Rubus buschii* Grossh. ex Sinjakova, *Ribes biebersteinii* Berl. ex DC., *Lonicera caucasica* Pall., *L.*

steveriana Fisch. ex Pojark и др. В травяном ярусе папоротники: *Dryopteris assimilis* S. Walker, *D. carthusiana* (Vill.) H.P. Fusch., *Athyrium filix-menia* (L.) Roth, *Matteuccia struthiopteris* (L.) Todaro и злаки: *Calamagrostis arundinacea* (L.), *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv., *Festuca drymeja* Mert. et Koch, *Milium effusum* L., *Poa nemoralis* L.. Обычный возраст березы 50–60 лет, средняя высота 14–15 м, средний диаметр 20–24 см, бонитет чаще IV.

Березняк войниковый встречается в тех же высотных пределах, что и березняк травяной. Занимает северные склоны средней крутизны. В древостое примесь других видов незначительна (*Pinus*, *Salix*, *Populus*). В травяном покрове абсолютно преобладает *Calamagrostis arundinacea* (L.).

Березняки злаково-разнотравный, черничник субальпийский и рододендроновый составляют группу типов леса – березняки субальпийские. Все они произрастают в самой верхней части лесного пояса (выше 2000 м) и граничат с субальпийскими лугами. Древостой редкий, деревья кривоствольные, низкорослые. Средняя высота 5–6 м, средний диаметр 8–12 см. Возраст не превышает 25–30 лет (Шхагапсоев, Волкович, 2002). В горных районах, образуя верхний предел леса, березняки играют важнейшую роль как водорегулирующего, противоэрозионного и против лавинного фактора.

В березняках нами выявлено 164 видов из 61 рода и 34 семейства. Преобладают виды следующих семейств:

Tricholomataceae (30) и *Russulaceae* (20), *Cortinariaceae* (16), *Amanitaceae* (10). Симбиотрофами являются 57 видов, на березовой древесине (ксилотрофы) встречается 39 видов, на листовом опаде 30. Ядовитыми являются 7 видов: *Amanita citrina*, *A. muscaria*, *Mycena rosella*, *Pholiota alnicola*, *Inocybe erubescens*, *Tricholoma sulphureum*, *T. aurantium*. Ниже даем реестр микобиоты, ранее не встречающейся в березняках: *Cudonia circinans* (Pers.) Fr., *Gyromitra infula* (Schaeff.: Fr.) Fr., *G. gigas* (Krombh.) Cke, *Helvella elastica* Bull.: Fr., *H. crispa* (Scop.) Fr., *H. lacunose* (Atzel.) Fr., *Peziza vesiculosa* Bull.: Fr., *Trazzetta caninus* (Holmskj.: Fr.) Karof.: Rogera, *Sarscocypha coccinea* (Scop.: Fr.) Lambotte., *Agaricus abruptibulbus* Pesk., *A. moelleri* S. Wasser, *A. silvicola* (Vitt.) Peck., *A. silvaticus* Sch.: Fr., *Lepiota aspera* (Pers.: Hofm.: Fr.) Quel., *L. squamosa* (Weinm.) Kumm., *Macrolepiota mastoidea* (Fr.) Sing., *M. procera* (Scop.: Fr.) Sing., *M. rhacodes* (Vitt.) Sing., *Amanita aspera* (Fr.) Hooker, *A. phalloides* (Vaill.: Fr.) Link., *A. virosa* (Fr.) Bertillon, *Amanitopsis crocea* (Quel.) Sing., *Agrocybe pediades* (Pers.: Fr.) Foyod, *Bolbitius vitellinus* (Pers.) Fr., *Coprinus atramentarius* (Bull.: Fr.) Fr., *C. comatus* (Müll.: Fr.) Pers., *C. ephemerus* (Bull.: Fr.) Fr., *Psathyrella candolleana* (Fr.: Fr.) Maire, *Entoloma chloropolium* (Fr.) Moser, *Hygrocybe conica* (Scop.: Fr.) Kumm., *Kuehneromyces mutabilis* (Schaeff.: Fr.) Sing., *Pholiota mutabilis* Quel., *Ph. squarrosa* (Pers.: Fr.) Kumm., *Stropharia aeruginosa* (Curt.: Fr.) Quel., *Leophyllum connatum* (Schum.: Fr.) Sing., *Oudemansiella mucida* (Schr.: Fr.) Höhn., *Xerula longipes* (Bull.) Dörtelt, *Auricula auricula-judae* (Bull.: Fr.) Wettstein, *Auricularia auricula* (Hook) Underw., *Cantharellus cibarius* Fr.: Fr., *C. tubaeformis* Fr., *Clavaria pistilaris* L., *Cortinarius odorifer* Britz, *C. rapanoides* (Pers.: Fr.) Fr., *C. rubellus* Cke, *C. trivialis* Lange, *Gymnopilus alpinus* (Sing.) Sing., *Crepidotus applanatus* (Fr.) Kumm., *Spongipellis spumeus* (Sowerby: Fr.) Pat, *Lentinus lepideus* Fr., *Russula ochroleuca* (Pers.) Fr., *R. puellaris* Fr., *R. xerampelina* Schaeff.

Хвойные леса образованы *Pinus kochiana* Klotzsch ex C. Koch. Основные массивы сконцентрированы в пределах Бокового и Главного Кавказского хребтов в ущельях реки Баксан и в верховьях Черема (Башиль-Аузу-Су и Суук-Аузу-Су). Фрагментарно, небольшими участками встречаются в ущельях рек Черек-Балкарский и Черек-Безенгийский (Укью, Думала). Она произрастает на высоте 1600-2400 м., а отдельные древостой сосны поднимаются до высоты 2800 м и выше (Шхагапсоев, Волкович, 2002). Эдификатором сосновых лесов является *Pinus kochiana* Klotzsch. ex C. Koch., чаще всего образует чистые древостой, с незначительной примесью *Betula pendula* Roth, *B. litwinowii* Doluch., *Acer trautevetteri* Medw., *Quercus petraeae* Liebl., *Populus tremula* L., *Alnus incana* (L.) Moench. Кустарниковый ярус редкой густоты из *Juniperus oblonga* Bieb., *J. sabina* L., *Rosa pimpinellifolia* L., *R. mollis*, Smith, *R. oxyodon* Boiss., *Sorbus caucasica* Zinserl., *Lonicera buschiorum* Pojark., *L. caprifolium* L., *L. caucasica* Pall., *Corylus avellana* L., *Grossularia reclinata* (L.) Mill., *Rhododendron luteum* Sweet, *Rubus buschii* Grossh. ex Sinjkova, *Salix caprea* L., *Daphne glomerata* Lam., *D. mezereum* L., *Vaccinium myrtillus* L., *V. vitis-idaea* L. Травянистая растительность развита довольно хорошо. В основном это виды, мало требовательные к богатству почв (*Delphinium flexuosum* Bieb., *Veronica caucasica* Bieb., *Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth, *C. caucasica* Trin. и др.).

Сосняки скальные занимают очень крутые освещенные склоны и являются самыми распространенными.

Древостой из сосны с единичной примесью березы и дуба, средний возраст 40-50 лет, средняя высота 6-8 м. Подлесок редкий из *Juniperus oblonga* Bieb. и *Rosa oxyodon* Boiss.. В травяном ярусе - *Fragaria vesca* L., *Carex humilis* Leyss., *Poa nemoralis* L. и др.

Сосняки травяно-кустарниковые встречаются на более пологих освещенных склонах и приречных террасах на высоте 1600-1800 м, ниже сосняка скального. В составе древостоя наряду с сосной присутствует *Betula raddeana* Trautv и *B. litwinowii* Doluch.. Древостой обычно состоит из двух-трех поколений, где абсолютно преобладает второе поколение. Средняя высота деревьев 20-22 м. Подлесок средней густоты из *Juniperus oblonga* Bieb., *Rubus buschii* Grossh. ex Sinjkova., *Salix caprea* L., *Daphne glomerata* Lam., *Rhododendron caucasicum* Pall. и *Rh. luteum* Sweet. В травяном ярусе доминируют злаки: *Calamagrostis caucasica* Trin., *Poa nemoralis* L., *Festuca drymeja* Mert. & Koch и др. Из двудольных - *Geranium robertianum* L., *Fragaria vesca* L., *Campanula rapunculoides* L. и др.

Сосняки мшистые встречаются исключительно по днищам долин на горнолесных почвах. Данная группа сосредоточена в основном в ущелье Башиль-Аузу-Су. Кустарниковый ярус из *Sorbus aucuparia* L., *S. caucasica* Zinserl., *Rhododendron caucasicum* Pall. и др. развит хорошо. Значительного развития достигает слой из зеленых мхов.

В сосняках в настоящее время выявлено 140 видов из 68 родов и 35 семейств. Преобладают в спектре виды следующих семейств: *Cortinariaceae* (25), *Tricholomataceae* (21), *Russulaceae* (14 видов), *Agaricaceae* (12) и *Amanitaceae* (10). По трофической приуроченности преобладают микоризообразователи 10,51%; сапротрофы опада и подстилки, составляющих 6,27%; ксилотрофных грибов 7,56%; гумусовых сапротрофов 4,24%. Из них съедобными являются 38 видов, количество ядовитых грибов составляет около 10 видов. Впервые для данной формации выявлены: *Gyromitra gigas* (Krombh.) Cke, *Helvella crispa* (Scop.) Fr., *H. infula* Fr., *H. lacunose* (Atzel.) Fr., *Rhizina undilata* Fr.: Fr., *Trazzetta caninus* (Holmskj.: Fr.) Karof.: Rogera, *Agaricus augustus* Fr., *A. langei* (Moel) Moeller, *A. moelleri* S. Wasser, *A. silvicola* (Vitt.) Peck., *Lepiota cristata* (Bolt.: Fr.) Kumm., *L. squamosa* (Weinm.) Kumm., *Amanita muscaria* (L.: Fr.) Hooker., *A. pantherina* (DC.: Fr.) Krombh., *A. phalloides* (Vaill.: Fr.) Link., *A. porphyria* (Alb.: Schw.: Fr.) Mladý, *A. rubescens* (Pers.: Fr.) S.F. Gray, *Agrocybe pediades* (Pers.: Fr.) Foyod, *Coprinus atramentarius* (Bull.: Fr.) Fr., *C. extensor* (St. Amans) Fr., *C. ephemerus* (Bull.: Fr.) Fr., *C. micitilis* (Fr.) Fr., *Psathyrella candolleana* (Fr.: Fr.) Maire, *Entoloma chloropolium* (Fr.) Moser, *E. lampropus* (Fr.: Fr.) Hestler, *Hygrocybe ceracea* (Wulf.: Fr.) Kumm., *Hygrophorus olivaceoalbus* (Fr.: Fr.) Fr., *Stropharia semiglobata* (Batsch.: Fr.) Quel., *Leophyllum connatum* (Schum.: Fr.) Sing., *Marasmius rotula* (Scop.: Fr.) Fr., *Mycena vicosa* (Secr.) Maire, *Xerula radicata* (Relhan: Fr.) Dörtelt, *Auricularia auricula* (Hook) Underw., *Cortinarius castaneus* (Bull.: Fr.) Fr., *C. infractus* (Pers.: Fr.) Fr., *C. muciflus* Fr., *C. malicorius* Fr., *C. semisanguinea* (Fr.) Gill, *C. splendens* Henry, *C. subbalteatus* Kühner, *C. schaefferianus* (Mos.) Mos., *C. odorifer* Britz, *C. praestans* (Cordier) Gollet, *C. rufoolivaceus* (Pers.: Fr.) Fr., *C. trivialis* Lange, *C. varicolor* (Pers.: Fr.) Fr., *Hebeloma crustiforme* (Bull.: Fr.) Quel., *Inocybe asterospora* Quel., *I. rimosa* (Fr.) Kumm., *Rozites caperatus* (Pers.: Fr.) Karst., *Calvatia utriformis* (Bull.: Pers.) Jaap., *Coriolus versicolor* (Fr.)

Quel, *Lenzites warnieri* Durieu: Mont., *Lentinus suavissimus* Fr., *Panus stipticus* (Fr.) Karst, *Hohenbuehelia geogenia* (De Caud) Singer, *Polyporus melanopus* (Swartz: Fr.) Fr., *Russula adusta* (Pers.: Fr.) Fr., *R. alutacea* (Pers.) Fr., *R. clariflava* Grove, *R. foetens* Pers.: Fr..

Список литературы

1. Буш Н.А. Ботанико-географический очерк Кавказа. М.-Л.: изд-во АН СССР, 1935.-107с.
2. Гроссгейм А.А. Анализ флоры Кавказа // Труды Ботан. Ист-та Аз ФАН СССР. 1936. Т. 1. 256С.
3. Гроссгейм А.А. Растительный покров Кавказа. М.:МО-ИП, 1948.-264с.
4. Гроссгейм А.А. Растительный покров Кавказа. М.: Наука, 1952.-632с.

5. Галушко А.И. Флора западной части центрального Кавказа (ЗЦК), ее анализ и перспективы использования. //Автореф. дисс....доктора биол. наук. 1969. – 42с.

6. Харадзе А.Л. Эндемичный гемиксерофильный элемент высокогорий Большого Кавказа //Проблемы ботаники: Матер. по изучению флоры и растит. Высокогорий. М.-Л.: Наука. 1960. Т.5. С. 115-126.

7. Харадзе А.Л. К изучению палеоэндемиков в высокогорьях Большого Кавказа // Сообщ. АН Груз ССР. 1972. Т.66. №3. С. 661-664.

8. Шхагапсоев С.Х., Кушалиева Ж.А., Крапивина Е.А. состояние и перспективы изучения биоразнообразия микобиоты российского Кавказа //Доклады Адыгской (Черкесской) Международной академии наук. 2023. Т. 23. № 1. С. 49-63.

9. Шхагапсоев С.Х., Волкович В.Б., 2002, Растительный покров Кабардино-Балкарии и его охрана. Нальчик: Эльбрус, 95 с.

ГРИБЫ-МАКРОМИЦЕТЫ В ТРЕТЬЕМ ИЗДАНИИ КРАСНОЙ КНИГИ ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ

Курочкин С.А., Медведев А.Г.

Тверской государственный университет, Областная станция юных натуралистов Тверской области

В 2024 г. подготовлено к печати третье издание Красной книги Тверской обл. В 2002 г. в первое издание вошли 18 редких видов грибов; во второе, к (2016 г.) – 22 вида. В новый Перечень объектов животного и растительного мира, занесенных в Красную книгу Тверской обл., вошли 30 видов грибов-макромицетов. Ниже представлены вошедшие в новое издание редкие виды.

1. *Antrodiella foliaceodentata* (Nicol.) Gilb. et Ryvarden – Антродиелла листовзубчатая. Статус 3. Редкий вид. Ранее был отнесен к 1 категории. Отмечался в Центральном-Лесном государственном природном биосферном заповеднике (ЦЛГПБЗ) в Нелидовском г.о., а также в Удомельском г.о. в окр. д. Попово.

2. *Aspropaxillus giganteus* (Sowerby) Kühner et Maire [= *Leucopaxillus giganteus* (Sowerby) Singer] – Говорушка гигантская. Статус 1. Вид, находящийся под угрозой исчезновения. Отмечался в Осташковском г.о. и Калининском м.о.

3. *Clavariadelphus pistillaris* (L.) Donk – Рогатик пестиковый. Статус 3. Редкий вид. Отмечался в Калининском, Конаковском м.о., Торжокском р-не, Удомельском г.о.

4. *Craterellus cornucopioides* (L.) Pers. – Вороночник рожковидный. Статус 3. Редкий вид. Рекомендован к включению в Красную книгу впервые. Известно шесть локальных популяций. Наиболее многочисленная – в окр. д. Ивановское (Удомельский г.о.), где известно несколько полей с численностью базидиом более 100 шт.

5. *Diplocarpha irregularis* (Schwein.) Baral et Pärtel [= *Ionomidotis irregularis* (Schwein.) E.J. Durand] – Диплокарпа неправильная. Статус 3. Редкий вид. Рекомендован к включению в Красную книгу впервые. В Тверской обл. выявлены две локальные популяции, обе – в границах ЦЛГПБЗ в Нелидовском г.о.

6. *Entocybe nitida* (Quél.) T.J. Baroni, Largent et V. Hofst. [= *Entoloma nitidum* Quél.] – Энтоцибе блестящая. Статус 3. Редкий вид. Рекомендован к включению в Красную книгу впервые. Известны три локальные популяции: в Калининском м.о. в окрестности пос. Савватьево; в Старицком м.о. на берегу р. Волги в окрестности д. Крутицы и в Конаковском м.о. к северу от г. Конаково.

7. *Entoloma chalybeum* (Pers.) Noordel. – Энтолома стальная. Статус 3. Редкий вид. Рекомендован к включению в Красную книгу впервые. Известна одна локальная популяция в Зубцовском м.о. на правом берегу р. Дёржа.

8. *Entoloma incanum* (Fr.) Hesler – Энтолома седая. Статус 3. Редкий вид. Рекомендован к включению в

Красную книгу впервые. Отмечался в Старицком м.о. в окрестности д. Крутицы и в Конаковском м.о. к западу от д. Малиновка.

9. *Flaviporus citrinellus* (Niemelä et Ryvarden) Ginns – Флавипорус лимонно-желтоватый. Статус 3. Редкий вид. Рекомендован к включению в Красную книгу впервые. Выявлен в Калининском м.о. в ГК «Завидово» и в Нелидовском г.о. в окр. пос. Заповедный.

10. *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. – Ганодерма блестящая. Статус 3. Редкий вид. Занесен в Красную книгу РФ. В Тверской обл. встречается в Вышневолоцком г.о., Конаковском м.о., Нелидовском г.о., Спировском м.о.

11. *Geastrum fimbriatum* Fr. – Звездовик бахромчатый. Статус 3. Редкий вид. Отмечен в Калининском м.о., Пенновском м.о., Фировском м.о.

12. *Geastrum quadrifidum* Pers. – Звездовик четырехлопастной. Статус 3. Редкий вид. В настоящее время на территории обл. выявлено 11 локальных популяций. Отмечался в Андреапольском м.о., Вышневолоцком г.о., Калининском м.о., Кимрском м.о., в окр. г. Твери, в Конаковском м.о., Оленинском м.о., Селижаровском м.о.

13. *Geastrum pectinatum* Pers. – Звездовик гребневидный. Статус 3. Редкий вид. Встречается в Андреапольском м.о. в границах ЦЛГПБЗ, в Калининском м.о., Конаковском м.о., Лихославльском м.о., Ржевском м.о. В настоящее время выявлено 8 локальных популяций.

14. *Gyroporus cyanescens* (Bull.) Quél. – Гирупорус синеющий, или Синяк. Статус 3. Редкий вид. В Тверской обл. отмечался в Калининском м.о., Нелидовском г.о. в границах ЦЛГПБЗ; в Старицком м.о.; в Торопецком м.о. В границах ЦЛГПБЗ в последние годы наблюдалось массовое плодоношение вида.

15. *Gyroporus castaneus* (Bull.) Quél. – Каштановый гриб, или Каштановик. Статус 3. Редкий вид. Отмечался в Андреапольском м.о., Западнодвинском м.о., Калининском м.о., Вышневолоцком г.о., Кимрском м.о., Торопецком м.о.

16. *Hericium coralloides* (Scop.) Pers. – Ежовик коралловидный. Статус 5. Восстанавливающийся вид. Ранее имел 3 статус. В Тверской обл. известно более 30 локальных популяций вида. В настоящее время численность вида не вызывает опасения.

17. *Kneiffiella abdita* Riebeschl et Langer [= *Chaetoporellus latitans* (Bourdot et Galzin) Bondartsev et Singer] – Кнейффиелла скрывающаяся. Статус 3. Редкий вид. Рекомендован к включению в Красную книгу впервые. В

Тверской обл. выявлены две локальные популяции: в Нелидовском г.о. в границах ЦЛГПБЗ и в Пеновском м.о. в окр. пос. Рунский.

18. *Lactarius lignyotus* Fr. – Млечник бурый. Статус 5. Восстанавливающийся вид. Ранее имел 3 статус. В Тверской обл. известны 14 локальных популяций, где базидиомы встречаются регулярно небольшими группами на протяжении нескольких лет.

19. *Mutinus caninus* (Huds.) Fr. – Мутинус собачий. Статус 3. Редкий вид. Ранее имел 4 статус. *Mutinus caninus* имеет сходный габитус с *Mutinus ravenelii*, который отличается рецептакулом («ножкой») красного цвета. *Mutinus ravenelii* – чужеродный вид из Северной Америки, который выявлялся в населенных пунктах, на приусадебных участках, в парках, вдоль дорог. В 2022 году был сделан критический анализ информации об известных местах обитания *Mutinus caninus* в Тверском регионе. *Mutinus caninus* зафиксирован в Старицком м.о. в окр. д. Тарасово, севернее г. Старица в вязовой роще на склоне левого берега р. Волга; в Вышневолоцком г.о., в Калининском м.о. в окр. д. Цветково. Указания на находки вида в г. Твери, Конаковском г.о., Ржевском м.о. в предыдущем издании Красной книги Тверской обл. следует считать ошибочными, связанными с находками *Mutinus ravenelii*.

20. *Neoboletus erythropus* (Pers.) C. Hahn [= *Boletus erythropus* Pers.] – Дубовик крапчатый. Статус 3. Редкий вид. Отмечался в Вышневолоцком г.о., Западнодвинском м.о., Максатихинском м.о. и Удомельском г.о.

21. *Phallus impudicus* L. – Веселка обыкновенная. Статус 1. Вид, находящийся под угрозой исчезновения. Ранее имел 3 статус. В Тверской обл. зафиксирован в Старицком м.о. в окр. с. Емельяново, по берегу Волги в границах Старицких ворот в облесенных глубоких оврагах, в Торопецком м.о. в окр. д. Чистое.

22. *Phleogena faginea* (Fr.) Link – Флеогена буковая. Статус 3. Редкий вид. Отмечался в Калининском м.о., Кувшиновском м.о., Нелидовском г.о. в границах ЦЛГПБЗ, в Конаковском м.о. в окр. с. Селихово.

23. *Picipes badius* (Pers.) Zmitr. et Kovalenko [= *Polyporus badius* (Pers.) Schwein.] – Трутовик каштановый. Статус 5. Восстанавливающийся вид. Ранее имел 3 статус. В Тверской обл. известно около 20 локальных популяций. В границах ЦЛГПБЗ вид нередок. На остальной территории обл. находки носят эпизодический характер.

24. *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr. – Трутовик зонтичный. Статус 3. Редкий вид. Занесен в Красную книгу РФ. В Тверской обл. отмечался в Пеновском м.о. северо-западнее д. Щеверово; в Удомельском г.о. в Куровском уч. лесничестве, кв. 164 и в Совхозном уч. лесничестве, кв. 34; в Торжокском р-не в окр. д. Александрово.

25. *Pycnoporellus alboluteus* (Ellis et Everh.) Kotl. et Pouzar. – Пикнопореллус бело-желтый. Статус 3. Редкий

вид. Рекомендован к включению в Красную книгу впервые. В 2023 г. включен в Перечень объектов растительного мира, занесенных в Красную книгу РФ. В Тверской обл. выявлен в Нелидовском г.о. в окр. пос. Заповедный и в Калининском м.о. в окр. ж/д ст. Чуприяновка.

26. *Pycnoporellus fulgens* (Fr.) Donk – Пикнопореллус сверкающий. Статус 5. Восстанавливающийся вид. Ранее имел 3 статус. В настоящий момент в регионе известно более 20 локальных популяций. Численность вида не вызывает опасения.

27. *Resinoporia piceata* (K. Runnel, Spirin et Vlasák) Audet. [= *Antrodia piceata* Runnel, Spirin et Vlasák] – Ресинопория смолистая. Статус 3. Редкий вид. Рекомендован к включению в Красную книгу впервые. Выявлен в Нелидовском г.о. в ЦЛГПБЗ; в Пеновском м.о. в окр. пос. Рунский.

28. *Rigidoporus crocatus* (Pat.) Ryvarden – Ригидопорус шафранно-желтый. Статус 3. Редкий вид. Рекомендован к включению в Красную книгу впервые. Выявлен в границах ЦЛГПБЗ, а также в ГК «Завидово».

29. *Sarcodontia spumea* (Sowerby) Spirin [= *Spongipellis spumea* (Sowerby) Pat.] – Саркодонтция пенообразная. Статус 3. Редкий вид. Рекомендован к включению в Красную книгу впервые. Выявлен в границах ГК «Завидово».

30. *Sarcosoma globosum* (Schmidel) Caspary – Саркосома шаровидная. Статус 2. Вид, сокращающийся в численности. Занесен в Красную книгу РФ. В Тверской обл. отмечался в Калининском, Конаковском м.о., Удомельском, Вышневолоцком, Кашинском г.о., Оленинском, Кимрском м.о. в окр. д. Нутрово.

При подготовке третьего издания Красной книги Тверской обл. список охраняемых грибов был расширен за счет включения видов, обитающих на неводоудельяемых лугах и лесных опушках: *Entocybe nitida*., *Entoloma chalybeum*., *Entoloma incanum*; видов, обитающих в старовозрастных лесных сообществах: *Craterellus cornucopioides*, *Diplocarpa irregularis*, *Flaviporus citrinellus*, *Kneiffiella abdita*, *Pycnoporellus alboluteus*, *Resinoporia piceata*, *Rigidoporus crocatus*, *Sarcodontia spumea*; видов из Красной книги РФ, которые во втором издании были ошибочно исключенных из основного списка региональной Красной книги по техническим причинам: *Ganoderma lucidum*, *Polyporus umbellatus*, *Sarcosoma globosum*.

Некоторые виды грибов были исключены из перечня охраняемых по причине того, что данные виды тяготеют к антропогенно нарушенным территориям. Это *Gaeastrum coronatum*, *Gaeastrum melanocephalum*, *Mycenastrum corium*., *Phaeolepiota aurea*, *Pseudohydnum gelatinosum*. Включение таких видов в Красную книгу нецелесообразно.

ПЕРВОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ *DIPLODIA SAPINEA* (FR.) P. KARST. В СРЕДНЕЙ СИБИРИ

Литовка Ю.А.^{1,2}, Познухова С.С.², Павлов И.Н.^{1,2}

¹ Институт леса им. В. Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск

² Сибирский государственный университет науки и технологий им. М.Ф. Решетнева, Красноярск

Экспансия инвазионных видов фитопатогенов вследствие изменения климата является существенной, но не единственной угрозой здоровью наших лесов. Эндифиты, которые обычно находятся в равновесии с растением, могут стать условно-патогенными, в том числе за счет ухудшения климатических условий для

растений-хозяев. Патогены кроны древесных растений предпочитают более влажные и теплые регионы, по сравнению с корневыми патогенами, доминирующими в холодных и засушливых районах. Глобальное изменение климата и увеличение частоты экстремальных погодных явлений позволяет предположить увеличение

восприимчивости возбудителей болезней филлосферы к климатическим изменениям [1, 2].

Гриб *Diplodia sapinea* (Fr.) P. Karst. был впервые описан в XIX веке как сапротроф на отмершей хвое, шишках, коре, побегах сосны и пихты, но в настоящее время известен как патоген многих видов хвойных деревьев, вызывающий побурение хвои, отмирание побегов, некроз коры ветвей с истечением смолы, корневую гниль сеянцев, синеву заболонной древесины [3]. Особое внимание к грибу было привлечено в последнее десятилетие, в частности, после массового усыхания 20-летних деревьев на плантации *Pinus sylvestris* L. в августе 2016 года вблизи Стокгольма [4]. Хорошо развитые деревья потеряли побеги текущего года, у большинства произошло усыхание вершины ствола, часть деревьев погибла. Рост числа массовых вспышек также наблюдается в Южной [5], Центральной Европе [6] и постепенно увеличивается в Северной Европе [7]. Ранее гриб вызывал вспышки только в районах с мягким климатом на плантациях интродуцированных сосен [8].

Первоначально *D. sapinea* может действовать как эндифит, и колонизированные деревья остаются бессимптомными. Гриб переходит в паразитарную фазу в результате физиологического стресса, под воздействием насекомых и других возбудителей болезней [5, 9]. *D. sapinea* обладает широким спектром ростовых субстратов, но, являясь термофилом, лимитирован низкой температурой. В соответствии с трендом глобального изменения климата тяжесть заболевания, вызываемого этим патогеном, уже возрастает в сосновых лесах Европы [10], а дальнейшее изменение климата может привести к существенному расширению его ареала.

Целью данной работы было обнаружение возбудителя болезни *P. sylvestris* в парковых насаждениях г. Красноярск (Средняя Сибирь), вызывающего схожую симптоматику с грибом *D. sapinea*. В задачи входило изолирование чистой культуры гриба, идентификация и исследование патогенности *in vitro*.

Объектом исследования служили хвоя и шишки разновозрастных деревьев *P. sylvestris*. Фрагменты шишек с пикнидами и хвою с признаками поражения после поверхностной стерилизации использовали для изолирования чистых культур грибов на 2 % мальт-экстракт агаре (МЭА) с 0,5 % танина при 24 °C. Морфологию быстрорастущих колоний исследовали на картофельно-сахарозном агаре (КСА), микроструктуры – на КСА со стерильной хвоей *P. sylvestris*. Для молекулярно-генетических исследований выделяли ДНК из семисуточного мицелия; концентрацию ДНК в отдельных образцах определяли с помощью спектрофотометра Nanodrop (Thermo Fisher Scientific). Для ПЦР использовали праймеры ITS1F/ITS4; продукты амплификации подвергали секвенированию в обоих направлениях. Реконструкцию филогенетического дерева выполняли на основе метода агломеративной иерархической кластеризации UPGMA. Последовательности редактировали и собирали в MEGA X и далее сравнивали с последовательностями в Genbank. Фитопатогенность *in vitro* исследовали на побегах *P. sylvestris* [11] и яблоках сорта Granny Smith [12].

Впервые на территории Средней Сибири на разновозрастных деревьях *P. sylvestris* нами выявлен вид *D. sapinea*, который является опасным патогеном хвойных деревьев. Всего из пикнид, обнаруженных на шишках *P. sylvestris*, изолировано в чистую культуру три сибирских штамма, которые по морфологическим признакам очень близки к представителям рода *Diplodia*. На КСА изоляты характеризовались быстрым ростом с

формированием пушистых колоний серо-зеленоватого оттенка, которые со временем темнеют. После инкубирования штаммов на свету в течение 10-12 сут на стерильных сосновых иглах получено характерное спорношение – эллиптической формы коричневые споры, иногда с одной перегородкой, размером 22-44 x 9-18 мкм. Все культуры характеризуются высоким ростовыми показателями: на МЭА средняя радиальная скорость роста составила 5,2-5,5 мм/сут, ростовой коэффициент 107-110; на КСА скорость роста от 4,9 до 7,5 мм/сут, ростовой коэффициент – 112-230. Молекулярно-генетические исследования подтвердили принадлежность выделенных изолятов к виду *D. sapinea*.

Исследование фитопатогенности выделенных штаммов на побегах сосны обыкновенной показало, что под их влиянием формируются некротические поражения коры и камбия во все стороны от точки инокуляции с диаметром некротической зоны от 8 до 31 мм в течение 15 сут при 24 °C. При инокуляции яблок сорта Granny Smith на глубину 5 мм отмечено развитие некроза в течение 7-10 сут: его глубина варьировала от 14 до 19 мм, диаметр – от 27 до 40 мм.

Таким образом, впервые на территории Сибири на деревьях *P. sylvestris* с различным фитопатологическим состоянием нами выявлен инвазионный вид *D. sapinea*, который является опасным патогеном хвойных деревьев, при этом длительное время ведет эндифитный образ жизни. Сибирские штаммы проявляют высокую степень фитопатогенности *in vitro* в отношении побегов *P. sylvestris* и плодов яблок сорта Granny Smith, вызывая некротические поражения коры, камбия и мякоти плода соответственно. Наличие длительной эндифитной фазы позволяет патогену оставаться незамеченными карантинными службами при транспортировке живых растений или их фрагментов и представляет особую опасность для его распространения на новые территории и растения-хозяева.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00052, <https://rscf.ru/project/23-26-00052>.

Список литературы

1. Prospero S., Botella L., Santini A., Robin C. Biological control of emerging forest diseases: How can we move from dreams to reality? // For. Ecol. Manage. 2021. 119377.
2. Chiang F., Mazdiyasn O., AghaKouchak A. Evidence of anthropogenic impacts on global drought frequency, duration, and intensity // Nature communications. 2021. 12(1). 2754.
3. Roy J., Kyritsi I., Reinwarth N., Bachelier J. B., Rillig M.C., Lücking R. Host and abiotic constraints on the distribution of the pine fungal pathogen *Sphaeropsis sapinea* (= *Diplodia sapinea*) // Frontiers in Forests and Global Change. 2022. 5. 971916.
4. Brodde L., Adamson K., Julio Camarero J., Castaño C., Drenkhan R., ... & Oliva J. *Diplodia* tip blight on its way to the north: Drivers of disease emergence in northern Europe. Frontiers in Plant Science // 2019. 9. P. 1818–1829.
5. Oliva J., Ridley M., Redondo M. A., Caballol M. Competitive exclusion amongst endophytes determines shoot blight severity on pine // Funct. Ecol. 2021. 35. P. 239–254.
6. Adamson K., Laas M., Blumenstein K., Busskamp J., Langer G.J., Klavina, D., Drenkhan R. Highly clonal structure and abundance of one haplotype characterize the *Diplodia sapinea* populations in Europe and Western Asia // J. Fungi. 2021. 7. 634.
7. Terhonen E., Babalola J., Kananen R., Jalkanen R., Blumenstein K. *Sphaeropsis sapinea* found as symptomless endophyte in Finland // Silva Fennica. 2021. V 55, №1. 10420.
8. Burgess T.I., Wingfield M.J., Wingfield B.D. Global distribution of *Diplodia* pinea genotypes revealed using simple sequence repeat (SSR) markers // Australas. Plant Pathol. 2004. 33. P. 513–519.
9. Brodde L., Åslund, M.S., Elfstrand M., Oliva J., Wågström K., Stenlid J. *Diplodia sapinea* as a contributing factor in the crown dieback

of Scots pine (*Pinus sylvestris*) after a severe drought // *Forest Ecology and Management*. 2023. 549. 121436.

10. Bußkamp J., Blumenstein K., Terhonen E., Langer G.J. Differences in the virulence of *Sphaeropsis sapinea* strains originating from scots pine and non-pine hosts // *For. Pathol.* 2021. 51.

11. Linaldeddu B.T., Deidda A., Scanu B., Franceschini A., Alves A., Abdollahzadeh J., Phillips A.J.L. Phylogeny, morphology and pathogenicity of Botryosphaeriaceae, Diatrypaceae and Gnomoniaceae associated with branch diseases of hazelnut in Sardinia (Italy) // *Eur J Plant Pathol.* 2016. 146. P. 259–279.

12. Diaz G.A., Valdez A., Halleen F., Ferrada E., Lolas M., Latorre B.A. Characterization and Pathogenicity of *Diplodia*, *Lasiodiplodia*, and *Neofusicoccum* Species Causing Botryosphaeria Canker and Dieback of Apple Trees in Central Chile // *Plant Disease*. 2022. 106. P. 925–937.

МИКСОМИЦЕТЫ КСИЛОБИОНТНОГО СУБСТРАТНОГО КОМПЛЕКСА В ЗАПОВЕДНИКЕ КОН ЧУ РАНГ, ВЬЕТНАМ

Луптакова А.Д., Новожилов Ю.К.

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

Данная работа является продолжением исследований миксомицетов Центрального Нагорья Вьетнама (Novozhilov et al., 2018; 2020). Здесь приведены первые данные о миксомицетах ксилобионтного субстратного комплекса в заповеднике Кон Чу Ранг.

Заповедник Кон Чу Ранг расположен в северо-восточной части вьетнамской провинции Зялай между координатами 14.50–14.58°N и 108.50–108.65°E. Площадь его составляет 159 км², из которых 99% представлены первичными и малонарушенными лесами. Рельеф холмистый, в северной части – горный, с высотами 800–1452 м над уровнем моря. Среднегодовая температура составляет около 21 °C. Среднегодовое количество осадков составляет около 1900–2000 мм. Основной тип леса – среднегорный вечнозеленый широколиственный и смешанный лес, распространен на северо-западе заповедника на высотах 900–1500 м. В древесной флоре преобладают виды из семейств Fagaceae (*Lithocarpus*, *Quercus*, *Castanopsis*), Lauraceae, Fabaceae, Clusiaceae, Myrtaceae, Ericaceae, Burseraceae и Magnoliaceae, из голосеменных встречаются *Dacrycarpus imbricatus* и *Dacrydium elatum* (Pham et al., 2021).

Материал получен на основе полевых сборов спорocarпов и образцов субстратов в 2022–2023 гг. Полевые исследования осуществлялись маршрутным методом. Субстрат для постановки влажных камер собран с учетных площадок, постановку и инкубирование влажных камер проводили по стандартной методике (Novozhilov et al., 2017). Камеральная обработка гербарного материала проводилась в лаборатории систематики и географии грибов Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН. Морфологические структуры спорocarпов изучались с помощью микроскопов Zeiss Axio Imager A1 и ZEISS Axio Zoom.V16. Определение собранных образцов проводили на основании изучения морфологических признаков с использованием определительных пособий (Martin, Alexopoulos, 1969; Farr, 1976; Poulain et al., 2011). Гербарные образцы спорocarпов хранятся в

гербарии лаборатории систематики и географии грибов БИН РАН (LE).

В полевых условиях на крупных древесных остатках обнаружено 46 образцов миксомицетов, а из 143 влажных камер с гниющей древесиной получен 121 образец миксомицетов. В результате для ксилобионтного субстратного комплекса идентифицировано 28 видов миксомицетов, относящихся к 7 порядкам, 11 семействам и 16 родам (в скобках приведено число обнаруженных видов): *Arcyria* (5), *Hemitrichia* (2), *Oligonema* (1), *Cladoderma* (1), *Echinostelium* (1), *Cribraria* (4), *Licea* (1), *Tubifera* (1), *Lycogala* (2), *Craterium* (1), *Didymium* (1), *Physarum* (3), *Collaria* (1), *Comatricha* (1), *Stemonitis* (2), *Stemonitopsis* (1).

Список литературы

- Novozhilov Y.K., Shchepin O.N., Alexandrova A.V. et al. 2018. Altitudinal patterns of myxomycete diversity across tropical forests of Southern Vietnam. *Protistology* 12(2): 73–80.
- Novozhilov Y.K., Shchepin O.N., Schnittler M. et al. 2020. Myxomycetes associated with mountain tropical forests of Bidoup Nui Ba and Chu Yang Sin national parks (Dalat Plateau, southern Vietnam). *Nova Hedwigia* 110(1–2): 185–224.
- Pham T. H. G., Morozova O. V., Alexandrova A. V. 2021. Boletoid fungi (Boletaceae, Basidiomycota) of protected areas of Kon Tum Plateau (Central Highlands of Vietnam). *Turczaninowia* 24(3): 65–76.
- Novozhilov Y. K., Erastova, D. A., Shchepin O. N. et al. 2017. Myxomycetes associated with monsoon lowland tropical forests in southern Vietnam. *Nova Hedwigia* 104(1–3): 143–182.
- Farr M. L. 1976. *Flora Neotropica. Monograph No. 16. Myxomycetes*. New York: 304 p.
- Martin G. W., Alexopoulos C. J. 1969. *The Myxomycetes*. Iowa City: 561 p.
- Poulain M., Meyer M., Bozonnet J. 2011. *Les Myxomycètes. Tome 1, guide de détermination*. Sévriér: 568 p.

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О МИКСОМИЦЕТАХ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ПРИПЯТСКИЙ» (РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ)

Мороз Е.Л.

Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАНБ, Минск

Национальный парк (НП) «Припятский» расположен на юге Беларуси на территории Петриковского, Житковичского и Лельчицкого районов Гомельской области. Образован в 1996 г. Площадь – 88 600 га. Имеет

статус территории международного значения. Отличительной особенностью НП является концентрация на его территории водных экосистем. Основная водная артерия НП – р. Припять, самый крупный и многоводный

приток Днепра. Территорию НП ограничивают притоки Припяти – Ствига (с северо-запада) и Уборть (с востока). В НП насчитывается 526 пойменных и старичных озер общей площадью 504 га. В период паводка водой может покрываться до 70% территории национального парка. С юго-запада на северо-восток в центре НП тянется массив переходных и верховых болот площадью около 30 000 га – один из крупнейших в Европе.

Лесная и кустарниковая растительность занимает 77% территории национального парка и представлена 87 типами леса 14 формаций. Эти леса считаются наиболее сохранившимися среди пойменных лесов бассейна Припяти и Днепра и уникальны для всей Восточно-Европейской равнины (Юргенсон и др., 2012).

Среди лесной растительности НП доминируют сосновые (46%) и березовые (19%) леса, дубравы (12%) и черноольшаники (8%). Присутствуют также насаждения граба, липы, ясеня, клена, древовидной ивы и участки островных ельников (Юргенсон и др., 2012).

Многообразие экологических условий, которые обусловлены особенностями рельефа, уникальной водной системой, особенностями микроклимата, и высоким уровнем богатства сосудистых растений, всё это создаёт условия, при которых следует ожидать высокое видовое разнообразие миксомицетов.

Миксомицеты относятся к малоизученной группе организмов на территории Национального парка «Припятский». Данное исследование является продолжением работы автора по изучению видового разнообразия миксомицетов НП (Мороз, 2023). В статье автором представлен список из 29 видов миксомицетов, впервые выявленных в НП. Поэтому инвентаризация миксомицетов на территории НП «Припятский» вносит вклад в изучение биоразнообразия этого региона и в целом Республики Беларусь.

В данной публикации представлен список новых видов миксомицетов для Национального парка «Припятский», выявленных в ходе определения гербарных образцов, собранных во время полевых работ в сентябре 2023 г. Сбор плодовых тел (спорофоров) миксомицетов осуществлялся маршрутным методом в лесах Национального парка в окрестностях д. Боклань Петриковского района Гомельской области. Камеральная обработка гербарного материала проводилась в лаборатории микологии Института экспериментальной ботаники НАН Беларуси. Микроморфологические структуры спорофоров изучались с помощью микроскопов 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 Nomenmyx (Lado, 2005–2024).

Гербарные образцы спорофоров хранятся в гербарии лаборатории микологии Института экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (MSK–F).

В результате наших исследований собрано 118 образцов плодовых тел, исследование которых позволило выявить 33 новых вида миксомицетов для Национального парка. Это: *Angioridium sinuosum* (Bull.) Grev., *Arcyria congesta* (Sommerf.) Berk., *A. ferruginea* Saut., *A. incarnata* (Pers. ex J.F. Gmel.) Pers., *A. insignis* Kalchbr. & Cooke, *A. stipata* (Schwein.) Lister, *Badhamia capsulifera* (Bull.) Berk., *Collaria arcyronema* (Rostaf.) Nann.-Bremek. ex Lado, *Comatricha laxa* Rostaf., *C. pulchella* (C. Bab.) Rostaf., *Craterium leucocephalum* (Pers. ex J.F. Gmel.) Ditmar, *Cribraria piriformis* Schrad., *C. rufa* (Roth) Rostaf., *C. tenella* Schrad., *C. vulgaris* Schrad., *Dictydiaethalium plumbeum* (Schumach.) Rostaf., *Diderma radiatum* (L.) Morgan, *Didymium melanospermum* (Pers.) T. Macbr., *D. squamulosum* (Alb. & Schwein.) Fr. & Palmquist, *Enerthenema papillatum* (Pers.) Rostaf., *Fuligo intermedia* T. Macbr., *Lamproderma arcyrioides* (Sommerf.) Rostaf., *Licea operculata* (Wingate) G.W. Martin, *Paradiacheopsis fimbriata* (G. Lister & Cran) Hertel ex Nann., *Perichaena depressa* Lib., *Physarum contextum* (Pers.) Pers., *P. leucophaeum* Fr. & Palmquist, *P. virescens* Ditmar, *P. viride* (Bull.) Pers., *Stemonitis pallida* Wingate, *S. splendens* Rostaf., *Trichia contorta* (Ditmar) Rostaf., *Tubifera ferruginosa* (Batsch) J.F. Gmel.

В результате наших исследований идентифицировано 33 вида миксомицетов, относящихся к 21 роду, 11 семействам, 6 порядкам.

Таким образом, видовой состав миксомицетов с учетом полученных ранее нами данных (Мороз, 2023) насчитывает 62 вида, которые относятся к 25 родам, 11 семействам, 6 порядкам, 3 надпорядкам и 2 подклассам. Больше всего видов в порядке Trichiales (21 вид), далее в порядке Physarales (19), Stemonitidales (10), Cribrariales (9) и наименьшее количество видов в порядках Reticulariales (2) и Liceales (1).

Все найденные нами виды относятся к лигнофильной эколого-трофической группе.

Список литературы

1. Юргенсон Н. А., Шушкова Е. В., Шляхтич Е. А., Устин В. В. Особо охраняемые природные территории Беларуси. Справочник / ГНПО «Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам». Минск: ГУ «БелИСА», 2012. 204 с.
2. Мороз Е. Л. Первое сообщение о миксомицетах (Mycetozoa) национального парка «Припятский» (Республика Беларусь) // 6 Международная научная конференция «Мониторинг и оценка состояния растительного мира» Минск-Лясковичи 9-13 октября 2023 г. – Лясковичи. 2023. С. 304-305.
3. Новожилов Ю. К. Класс Миксомицеты. Определитель грибов России: отдел Слизевика; вып. 1. СПб., 1993. 288 с.
4. Martin G. W., Alexopoulos C. J. 1969. The Myxomycetes. Iowa City: 561 p.
5. Lado (2005–2024). An on line nomenclatural information system of Eumycetozoa. <http://www.nomen.eumycetozoa.com>. (Date of access: 15 III 2024).

НОВЫЕ НАХОДКИ КРАСНОКНИЖНЫХ ВИДОВ ГРИБОВ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «МАРИЙ ЧОДРА»

Нагуманов Ш.З.

Национальный парк «Марий Чодра»

Национальный парк «Марий Чодра» организован в 1985 г., расположен в юго-восточной части республики Марий Эл.

Исследование грибов проводилось нами впервые на территории национального парка с 2003 по 2020 г., и продолжены в 2022 и 2023 гг.

По последним данным и прошлых лет, в парке выявлено более 200 видов грибов (Нагуманов..., 2007; Нагуманов..., 2005, Летопись..., 2004) из них 3 вида макромицетов занесены в Красную книгу РФ: *Grifola umbellata* (Fr.) Pill., *G. frondosa* (Fr.) S.F. Gray., *Sparassis crispa* (Fr.) Fr. (Красная книга РФ..., 2008). Тринадцать видов макромицетов национального парка включены в Красную книгу Республики Марий Эл: *Gyroporus castaneus* (Bull.:Fr.) Quel., *Grifola umbellata* (Fr.) Pill., *G. frondosa* (Fr.) S.F. Gray., *Hericium coralloides* (Fr.) S.F. Gray., *Fistulina hepatica* (Schaff.) Fr., *Cortinarius violaceus* (L.:Fr.) Fr., *Sparassis crispa* (Fr.) Fr., *Clavariadelphus pistillaris* (Fr.) Donk., *Langermannia gigantea* (Pers.) Rostk., *Lycoperdon echinatum* Pers., *Volvariella bombycina* (Schaeff.) Singer, *Spathularia flafida* Fr., *Lycoperdon echinatum* Pers. (Красная книга Республики Марий Эл..., 2023 г.).

Кроме того, 9 видов грибов, растущих в парке являются редкими для ее территории: *Boletus luridus* Fr., *B. satans* Lenz., *Lyophyllum decastes* (Berk.) Kuhner., *Stropharia eruginosa* (Fr.) Quel., *Calocera viscosa* Fr., *Cudonia circinans* Fr., *Leotia lubrica* Pers., *Helvella elastica* St. Am., *Sarcoscypha coccinea* (Krombh.) Cke.

В полевой сезон 2023 года нами выявлены новые местообитания двух видов грибов занесенных в Красную книгу Республики Марий Эл *Fistulina hepatica* (Schaff.) Fr. и *Langermannia gigantea* (Pers.) Rostk.. Погодно-климатические условия в период изучения грибов-макромицетов в 2023 г. были неблагоприятными для плодотворного образования грибов из-за сухого вегетационного периода. Важным фактором произрастания грибов является макро микро рельеф местности и близость водоемов. *Fistulina hepatica* (Schaff.) Fr. и *Langermannia gigantea* (Pers.) Rostk., обнаружены вблизи реки Илеть

и в небольших низинах. Нами в полевой сезон 2023 г. найдено 1 плодовое тело *Fistulina hepatica* (Schaff.) Fr на стволе дуба и 3 плодовых тел гриба-макромицета *Langermannia gigantea* (Pers.) Rostk.

Лимитирующими условиями для произрастания грибов, занесенных в Красную книгу РФ и РМЭ является антропогенный фактор: рубки леса, массовое посещение лесов населением (сбор грибов грибниками, «любителями природы», из-за необычности и красоты плодовых тел, рубки леса и сбор валежника; чрезмерное посещение лесов населением: уплотнение лесной подстилки, а так же особенности биологии и экологии грибов.

Краснокнижные виды макромицетов национального парка «Марий Чодра», отмечены в соседнем регионе Республике Татарстан (Красная книга Республики Татарстан..., 2016) и в Республике Чувашии (Красная книга Чувашской Республики..., 2020).

Список литературы

1. Нагуманов Ш.З. Макромицеты национального парка «Марий Чодра» / Дипломная работа студента V курса КГУ. Казань, 1997. Фонды кафедры ботаники КГУ. - 66 с.
2. Нагуманов Ш.З. Список макромицетов НП «Марий Чодра» / Научные исследования в национальном парке «Марий Чодра». Выпуск. I. Йошкар-Ола, 2005. 60-76 с.
3. Летопись природы НП «Марий Чодра» (2003г.) п. Красногогорский, 2004 г., 90-95с.
4. Красная книга Республики Татарстан: животные, растения, грибы = Татарстан Республикасы Кызыл китабы: хайваннар, үсемлекләр, гөмбәләр / гл. ред. А. А. Назиров. — Изд. 3-е. — Казань: Идел-Пресс, 2016. — 760 с.
5. Красная книга Республики Марий Эл: Растения Грибы, / Рыжова Л.В. Богданов Г.А., Жукова О.В. Йошкар-Ола, 2023. - 353 с.
6. Красная книга Чувашской Республики. Том 1. Часть 1: Редкие виды растений и грибов. – Издание второе, переработанное и дополненное / Науч. ред. М.М. Гафурова, М.С. Игнатов, Т.Ю. Толпышева, Т.Ю. Светашева; под общ. ред. М.М. Гафуровой. – Москва: Издательство «Буки Веди», 2020. – 332 с.

ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ ИТОГИ ИССЛЕДОВАНИЙ МИКОБИОТЫ ВЬЕТНАМА В БОТАНИЧЕСКОМ ИНСТИТУТЕ РАН

Попов Е.С., Новожилов Ю.К., Псурцева Н.В., Журбенко М.П., Кияшко А.А., Морозова О.В., Малышева В.Ф., Малышева Е.Ф., Сенник С.В., Дудка В.А., Иванова Д.Д., Калинина Л.Б., Луптакова А.Д., Волобуев С.В.
Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

На протяжении последних полутора десятилетий научными коллективами лаборатории систематики и географии грибов и лаборатории биохимии грибов Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН (БИН РАН) проводятся исследования биологического разнообразия грибов и миксомицетов Вьетнама. Исследования включают в себя инвентаризацию таксономического разнообразия, изучение распространения, а также выявление структурно-функциональных особенностей группировок макромицетов и миксомицетов.

Договоренность о сотрудничестве в изучении микобиоты Вьетнама между БИН РАН и Российско-Вьетнамским Тропическим научно-исследовательским и технологическим центром была достигнута в октябре 2009 г. и уже в феврале 2010 г. состоялась первая рекогносцировочная поездка проф. А.Е. Коваленко во Вьетнам. За прошедшее с тех пор время состоялось 18 экспедиций продолжительностью от одного до шести месяцев. Исследования проводились в равнинных и горных тропических лесах 30 природных резерватов севера, центра и юга Вьетнама.

Объем собранного сотрудниками лабораторий в сотрудничестве с А.В. Александровой (Кафедра микологии и альгологии МГУ) гербарного материала, хранящегося в микологическом гербарии БИН РАН (LE), к настоящему времени превышает 10000 образцов, их обработка уже позволила выявить более 1500 видов, из числа которых 81 вид и 3 рода грибов, а также 6 видов миксомицетов описаны как новые для науки. Около 1200 видов грибов и 130 видов миксомицетов впервые отмечены на территории Вьетнама.

К началу 2024 года были обобщены сведения о разнообразии болевых грибов (порядок Boletales) Центрального Вьетнама (Pham et al., 2020, 2021, 2024), обработан материал по сем. Pluteaceae (Malysheva et al., 2019; 2020; Malysheva, Popov, 2022; Malysheva et al., 2023) и роду *Pseudohydnum* (Spirin et al., 2023), продолжается обработка сем. Entolomataceae (Morozova et al., 2012; Morozova et al., 2018; Morozova et al., 2022; Morozova, Pham, 2023) и Agaricaceae (Ivanova et al., 2023). Получены первые данные о лихенофильных грибах Вьетнама (Zhurbenko et al., 2016; Zhurbenko et al., 2020). Существенно расши-

ренны наши знания об анаморфных грибах этой страны (Мельник, 2011; Мельник и соавт., 2018).

Выявлены некоторые тенденции в распределении миксомицетов на высотном градиенте, а также в различных биотопах и субстратах. В горных тропических лесах видовое богатство и обилие снижаются с увеличением высоты над уровнем моря и имеют минимальные значения в поясе туманных лесов, специфичность миксомицетных комплексов при этом прогрессивно возрастает. Обилие и видовое богатство миксомицетов также снижается с увеличением влажности субстратов (Fedorova et al., 2020; Novozhilov et al., 2017, 2018, 2020).

С 2012 года также проводится работа по сохранению биоразнообразия макромикетов Вьетнама *ex situ* на основе Коллекции культур базидиомицетов БИН РАН (LE-BIN) (Psurtseva et al., 2023). За годы исследований было проведено, в общей сложности, более 1500 выделений в чистую культуру из собранных образцов макромикетов различных таксономических групп, из которых было получено более 800 мицелиальных культур. После их первичной верификации и культурально-морфологической характеристики 676 штаммов вьетнамского происхождения были введены в коллекционный фонд LE-BIN. На основе культурального подхода проводятся работы по выявлению структурно-функциональных особенностей грибов Вьетнама (Vydryakova et al., 2012; Psurtseva et al., 2016; Senik et al., 2019; Mazheika et al., 2021; Mazheika et al., 2022; Kotlova et al., 2022). Полученные данные свидетельствуют о том, что многие штаммы тропических видов грибов обладают ценными ресурсными свойствами и являются перспективными объектами для дальнейших биотехнологических исследований.

Список литературы

- Pham T.H.G., Morozova O.V. 2020. Boletoid fungi (Boletaceae, Basidiomycota) of the Bidoup Nui Ba National Park (Vietnam). *Turczaninowia* 23(4): 88–98.
- Pham T.H.G., Morozova O.V., Alexandrova A.V. 2021. Boletoid fungi (Boletaceae, Basidiomycota) of protected areas of Kon Tum Plateau (Central Highlands of Vietnam). *Turczaninowia* 24(3): 65–76.
- Pham T.H.G., Popov E., Alexandrova A., Ivanova D., Morozova O. 2024. New data on Boletaceae (Agaricomycetes, Basidiomycota) from Central Vietnam with description of two new species and creation of a new combination based on morphological and phylogenetical evidence. *J. Fungi* 10: 223.
- Malysheva E., Malysheva V., Alexandrova A., Morozova O. 2019. Observations on Pluteaceae in Vietnam. 1. New species and new records of *Volvariella*. *Phytotaxa* 408(4): 233–254.
- Malysheva E., Malysheva V., Alexandrova A., Morozova O. 2020. Observations on Pluteaceae in Vietnam. 2. One new record and ten new species of *Pluteus*. *Phytotaxa* 461(2): 79–107.
- Malysheva E., Popov E. 2022. Observations on Pluteaceae in Vietnam. 3. One new species of *Volvariella*. *Phytotaxa* 545(3): 278–286.
- Malysheva E., Popov E., Morozova O., Dudka V., Pham T. H. G., Malysheva V. 2023. Observations on Pluteaceae in Vietnam: Four New Species and New Records of *Pluteus*. *J. Fungi* 9(5): 584.
- Spirin V., Malysheva V., Viner I., Dudka V., Grebenc T., Miettinen O. 2023. Taxonomy and multigene phylogeny of *Pseudohydnum* (Auriculariales, Basidiomycota). *Mycol. Progr.* 22(6): 40.
- Morozova O., Pham T. H. G. 2023. New Species of *Entoloma* Subgenera *Cubospora* and *Leptonia* (Agaricales, Basidiomycota) from Central Vietnam. *J. Fungi* 9: 621. 10.3390/jof9060621.
- Morozova O., Popov E., Alexandrova A., Pham T. H. G., Noordeloos M. 2022. Four new species of *Entoloma* (Entolomataceae, Agaricomycetes) subgenera *Cyanula* and *Claudopus* from Vietnam and their phylogenetic position. *Phytotaxa* 549(1): 1–21.
- Morozova O.V., Noordeloos M.E., Popov E.S., Alexandrova A.V. 2018. Three new species within the genus *Entoloma* (Basidiomycota, Agaricales) with clamped basidia and a serrulatum-type lamellae edge, and their phylogenetic position. *Mycol. Progr.* 17(3): 381–392.
- Morozova O.V., Popov E.S., Kovalenko A.E. 2012. Studies on mycobiota of Vietnam. I. Genus *Entoloma*: new records and new species. *Mikol. Fitopatol.* 46(3): 184–200.
- Ivanova D., Morozova O., Pham T.H.G. 2023. Three new species of *Micropsalliota* (Agaricaceae, Basidiomycota) from central and southern Vietnam. *Phytotaxa* 626(4): 247–258.
- Zhurbenko M.P., Diederich P., Gagarina L.V. 2020. Lichenicolous fungi from Vietnam, with the description of four new species. *Herzogia* 33(2): 525–543.
- Zhurbenko M.P., Etayo J., Demidova A.N., Zhdanov I.S. 2016. *Capronia josephafellneri* sp. nov. (Ascomycota, Herpotrichiellaceae) and some other lichenicolous fungi from Vietnam. *Herzogia* 29(2): 364–373.
- Мельник В.А. 2011. Анаморфные грибы Вьетнама. I. Микол. и фитопатол. 45(4): 323–331.
- Мельник В.А., Александрова А.В., Новожилов Ю.К. и др. 2018. Анаморфные грибы Вьетнама. IX. Микол. и фитопатол. 52(4): 252–257.
- Fedorova N.A., Novozhilov Y.K., Gmoshinskiy V.I. 2020. Diversity of slime moulds (Myxomycetes= Myxogastrea) in mountain tropical forests of the Phia Oac Reserve (Northern Vietnam) revealed by moist chamber cultures. *Mikol. Fitopatol.* 54(4): 288–298.
- Novozhilov Y. K., Erastova, D. A., Shchepin O. N. et al. 2017. Myxomycetes associated with monsoon lowland tropical forests in southern Vietnam. *Nova Hedwigia*. 104(1-3): 143–182.
- Novozhilov Y.K., Shchepin O.N., Alexandrova A.V. et al. 2018. Altitudinal patterns of myxomycete diversity across tropical forests of Southern Vietnam. *Protistology* 12(2): 73–80.
- Novozhilov Y.K., Shchepin O.N., Schnittler M. et al. 2020. Myxomycetes associated with mountain tropical forests of Bidoup Nui Ba and Chu Yang Sin national parks (Dalat Plateau, southern Vietnam). *Nova Hedwigia* 110(1-2): 185–224.
- Psurtseva N.V., Kiyashko A.A., Senik S.V. et al. 2023. The conservation and study of macromycetes in the Komarov Botanical Institute Basidiomycetes Culture Collection — their taxonomical diversity and biotechnological prospects. *J. Fungi* 9(12): 1196.
- Vydryakova G.A.; Van D.T.; Shoukouhi P. et al. 2012. Intergenomic and intragenomic ITS sequence heterogeneity in *Neonothopanus nambi* (Agaricales) from Vietnam. *Mycology* 2: 89–99.
- Psurtseva N.V., Zmitrovich I.V., Malysheva V.F. 2016. Taxonomy and developmental morphology of *Rogersiomyces malaysianus* comb. nov. (Cantharellales, Agaricomycetes). *Botany* 94(8):579–592.
- Senik S.V., Psurtseva N.V., Shavarda A.L., Kotlova E.R. 2019. Role of lipids in the thermal plasticity of basidial fungus *Favolaschia manipularis*. *Canad. J. Microbiol.* 65(12): 870–879.
- Mazheika I.S., Semenova M.A., Voronko O.V. et al. 2021. Evaluation of the carbonylation of filamentous fungi proteins by dry immune dot blotting. *Fungal Biol.* 125(11): 923–933.
- Mazheika I.S., Psurtseva N.V., Kamzolkina O.V. 2022. Lomasomes and other fungal plasma membrane macroinvasions have a tubular and lamellar genesis. *J. Fungi* 8(12): 1316.
- Kotlova E.R., Senik S.V., Manzhieva B.S. et al. 2022. Diversity of ESI-MS Based Phosphatidylcholine Profiles in Basidiomycetes. *J. Fungi* 8(2): 177.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ БАЗ ДАННЫХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ
«FUNGI OF TATARSTAN»

Потапов К.О.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Земли Среднего Поволжья располагаются в условиях зонального экотона [1], что обеспечивает регион самыми разнообразными условиями обитания, от сухих степей на юго-востоке республики, до темнохвойных лесных формаций с участием ели и пихты на севере. Такое разнообразие обеспечивает высокое видовое богатство организмов, населяющих природные сообщества, в том числе грибов. С целью хранения, систематизации и анализа информации о последних в 2017 году нами разработаны три самостоятельных базы, которые являются частью общего проекта баз данных о грибах «Fungi of Tatarstan». Они включают в себя информацию о коллекции грибов, собранных автором начиная с 2012 года, информацию об опубликованных микологических находках, относящихся непосредственно к территории региона и информацию, собранную в ходе экспедиций, что фактически является электронным вариантом полевого дневника. Более подробно о структуре и функционировании этих баз нами описано ранее [2].

База данных о коллекции грибов включает в себя следующие поля для заполнения: «expert», «collectionCode», «catalogNumber», «fieldNumber», «datasetName», «genus», «epithet», «scientificName», «originalNameUsage», «identificationQualifier», «identifiedBy», «collector», «region», «district», «natureReserve», «inhabitedLocality», «locality», «ecosystem», «habitat», «substrat», «host_symb», «trophgroup», «date_col», «previousIdentifications», «previousIdentifiedBy», «d_lat», «d_lon», «family», «order», «note», «reference», «photo», «associatedTaxa», «culture», «duplicate», «DNA». Эти поля позволяют вносить информацию о таксономической принадлежности вида, дате и месте находки, типе сообщества и субстрате и прочей информации, позволяющей дать исчерпывающее представление о конкретном коллекционном образце. В настоящий момент в этом разделе внесено 2480 уникальных записей, соответствующих 677 видам, относящимся к 237 родам, 67 семействам и 15 порядкам базидиальных макромицетов, в т.ч. агарикоидных, афиллофороидных и гастероидных грибов.

База литературных данных включает в себя такие разделы, как «datasetName», «genus», «scientificName», «id_reference», «originalNameUsage», «county», «habitat», «host_symb», «trophgroup», «oort», «Toponym», «locality», «date», «note», «bibliographicCitation». В чем-то её структура аналогична предыдущей, однако есть и свои особенности, в частности появляется привязка к литературному источнику, описание которого приводится в вспомогательном разделе с подробным описанием типа и названия источника, даты опубликования, авторов, названия публикации и т.д., всего по 17 полям, позволяющим получить исчерпывающую информацию о литературном источнике. К данному моменту в базе приводятся 1904 уникальные записи из 36 источников соответствующие 912 видам базидиальных макромицетов, относящихся к 321 роду.

База данных о полевых наблюдениях была создана значительно позже предыдущих двух по аналогии с коллекционной, но на основании полевых сведений о наи-

более часто встречающихся видах, и тех видах, которые без труда идентифицируются без применения методов микроскопирования на основании экспертного опыта. К таким видам относятся, например, *Fomes fomentarius*, *Bjerkandera adusta*, *Schizophyllum commune*, *Laetiporus sulphureus*, *Artomyces pyxidatus*, *Amanita muscaria*, *Amanita rubescens*, *Lactarius torminosus*, *Boletus edulis* и другие. Безусловно, таких видов в базе приводится значительно меньше, чем в предыдущих двух, что объясняется очевидной сложностью идентификации грибов, однако количество записей и скорость их заполнения выше. Таким образом, в ней приводятся сведения о 2590 встречах, относящихся к 302 видам базидиальных макромицетов. Мы надеемся, что информация из этой базы в совокупности с данными из двух выше описанных позволит со временем дать четкое представление о географических особенностях распространения наиболее обычных и фоновых видов, с одной стороны решая фундаментальные вопросы биологии и географии грибов, с другой – практических, связанных с охраной базидиальных макромицетов.

В настоящий момент происходит государственная регистрация всех трех баз, которые в будущем будут объединены в единую базу данных «Fungi of Tatarstan», на основе иного инструмента, работа над чем активно ведется в последнее время.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, проект № FZSM-2024-0004.

Список литературы

1. Коломыц Э.Г. Бореальный экотон и географическая зональность: атлас-монография. М., Наука. 2005.
2. Потапов К.О. База данных о грибах Республики Татарстан на основе платформы GOOGLE SPREADSHEETS / К. О. Потапов // Информационные технологии в исследовании биоразнообразия: материалы III Национальной научной конференции с международным участием, посвященной 100-летию со дня рождения академика РАН П. Л. Горчаковского (Екатеринбург, 5–10 октября 2020 г.). – Екатеринбург: Гуманитарный университет, 2020. – С. 455–457

ФИТОТРОФНАЯ ОБЛИГАТНО-ПАЗАРИТНАЯ МИКОБИОТА
ПРОБНОЙ ПЛОЩАДИ ЛАНДШАФТНО-РЕКРЕАЦИОННОГО ПАРКА
РЕГИОНАЛЬНОГО ЗНАЧЕНИЯ «НАУЧНЫЙ», КРЫМ

Присянникова И.Б.
Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского, Симферополь

Умеренно-холодный и влажный климат Горного Крыма с элементами средиземноморского климата способствует развитию флоры разнообразного видового состава и столь же разнообразной фитотрофной микобиоты. Детальное изучение видового состава растительных сообществ и входящей в него фитотрофной паразитной микобиоты, является одним из обязательных условий сохранения биологического разнообразия экосистем. Пробная площадь (1215 м²), на которой были проведены исследования, находится на территории ландшафтно-рекреационного парка регионального значения «Научный», объекта ООПТ РФ и расположена на одном из отрогов горы Сель-Бухра (658 м н. у. м., окрестности пгт. Научный Бахчисарайского района Республики Крым).

Видовую идентификацию фитопатогенных грибов на пробной площади проводили с использованием отечественных и зарубежных определителей и справочной литературы (Дудка и др., 2004; Купревич, Ульянищев, 1975; Ульянищев, 1978; Гелюта, 1989; Каратыгин, Азбукина, 1989; Азбукина, 2015; Termorshuizen, 2011; Braun, 2012). Таксономический статус видов грибов и грибоподобных организмов приведен согласно базе «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 CX31RTSE, Olympus (Филиппины) и стереоскопического SZN71, Soptor (Китай).

Составлен конспект флоры исследуемой пробной площади, проанализирована его ареологическая, биоморфная, соэологическая и ресурсная характеристика. Выявлено 117 видов высших растений из 93 родов и 37 семейств отдела высших сосудистых растений (Magnoliophyta), что составляет 4,6 % от 2536 видов флоры Крыма (Ена, 2012).

Видовой состав фитотрофных паразитных микромицетов, зафиксированных на территории пробной площади в окрестностях парка «Научный», приводится в нижеприведенном списке с указанием в скобках балла встречаемости шкалы Гааса (Леонтьев, 2008). Для представителей порядков Erysiphales и Pucciniales также в скобках указана стадия развития, в которой гриб обнаружен: для мучнисторосяных – анаморфа или телеоморфа; для ржавчинных: 0 – спермогоний, I – эций, II – урединий, III – телий; знаком «(!)» обозначены виды грибов, отмеченные впервые на территории Крыма.

Отдел Ascomycota, класс Leotiomycetes, порядок Erysiphales, семейство Erysiphaceae: *Erysiphe alphitoides* var. *alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam. (2), (телеоморфа); *Erysiphe euonymi* DC. (2), (телеоморфа); *Erysiphe prunastri* DC. (1), (анаморфа); *Phyllactinia fraxini* (DC.) Fuss (1), (телеоморфа), *Podosphaera aphanis* var. *aphanis* (Wallr.) U. Braun & S. Takam. (2), (анаморфа); класс Sordariomycetes, порядок Phyllachorales, семейство Phyllachoraceae: *Polystigma rubrum* (Pers. : Fr.) DC (1); порядок Pleosporales, семейство Phaeosphaeriaceae: *Ampelomyces quisqualis* Ces. (2) на *Agrimonia eupatoria* L., пораженного мучнисторосяным грибом *Podosphaera aphanis* var. *aphanis* (Wallr.) U. Braun & S. Takam.

Отдел Basidiomycota, класс Pucciniomycetes, порядок Pucciniales, семейство Coleosporiaceae: *Coleosporium inulae* Rabenh. (1), (II); *Cronartium flaccidum* (Alb. & Schwein.) G. Winter (1), (II); семейство Phragmidiaceae: *Phragmidium micronatum* (Pers.) Schltdl (3), (II, III), *Phr. potentillae* (Pers. : Pers.) P. Karst. (2), (II, III); семейство Gymnosporangiaceae: *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter (3), (I); семейство Pucciniaceae: *Puccinia cesatii* J. Schröt. (4), (II); семейство Raveneliaceae: *Triphragmium ulmariae* (R. Hedw.) Link (1) (III); семейство Pucciniastraceae: *Pucciniastrum agrimoniae* (Dietel) Tranzschel (+), (!), (II). Класс Ustilaginomycetes, порядок Ustilaginales, семейство Ustilaginaceae: *Anthracoidea caryophylleae* Kukkonen (4).

Исходя из данных вышеприведенного списка видов грибов, согласно градации шкалы Гааса, наиболее часто встречающимися видами паразитных микромицетов являются: *Anthracoidea caryophylleae*, *Puccinia cesatii*; данные виды встречаются во многих местах. Виды таких грибов, как: *Gymnosporangium sabinae* и *Phragmidium micronatum* встречались неравномерно, рассеяно. К наименее обильным по встречаемости шкалы Гааса видам паразитных микромицетов можно отнести: *Pucciniastrum agrimoniae*, *Triphragmium ulmariae*, *Coleosporium inulae*, *Erysiphe prunastri*, *Podosphaera aphanis* var. *Aphanis*, *Phyllactinia fraxini*, встречающихся единичными экземплярами, либо редкими локальными скоплениями.

На пробной площади нами обнаружены 16 видов паразитных микромицетов из 13 родов, 11 семейств, 5 порядков, 4 классов и 2 отделов настоящих грибов. Доминирующим по количеству видов грибов является отдел Basidiomycota – 9 видов и 8 родов (56,2% и 61,5%, соответственно), второе место занимает отдел Ascomycota – 7 видов и 5 родов (43,8% и 38,5%) (табл. 1).

Табл. 1. Таксономический состав фитотрофной облигатно-паразитной микобиоты пробной площади

Отдел грибов	Количество				Доля от общего числа родов, %	Количество видов	Доля от общего числа видов, %
	классов	порядков	семейств	родов			
Ascomycota	2	3	3	5	38,5	7	43,8
Basidiomycota	2	2	8	8	61,5	9	56,2
Всего	4	5	1	3	100	16	100,0

В отделе Basidiomycota первое место по количеству видов занимают паразитные микромицеты, относящиеся к классу Pucciniomycetes порядка Pucciniales. Они представлены 8 видами из семи родов: *Phragmidium* – 2 вида, а роды *Coleosporium*, *Gymnosporangium*, *Triphragmium* *Pucciniastrum*, *Cronartium* и *Puccinia* – представлены по одному виду. Головные грибы отмечены одним видом из рода *Anthracoidea*, относящегося к одному семейству Ustilaginaceae порядка Ustilaginales класса Ustilaginomycetes.

В отделе Ascomycota представители порядка Мучнисторосяные грибы (Erysiphales) представлены 5 видами

из трех родов: *Erysiphe* – 3 вида, *Podosphaera* и *Phyllactinia* – по одному виду, Класс Sordariomycetes представлен 2 видами грибов паразитов-растений.

Большой микологический интерес вызывает миграция паразитных грибов в пределах природных зон Крыма, а также обнаружение новых видов грибов на Крымском полуострове. При сопоставлении данных литературных источников, представляющих собой аннотированный список видового состава грибов Крыма (Дудка и др., 2004), а также электронный ресурс

(<http://www.cybertruffle.org.uk>) нами было выявлено, что обнаруженный нами вид гриба-паразита *Russiniastrum agrimoniae* на листьях *Agrimonia eupatoria* ранее не был отмечен для территории Крыма. Нами также был выявлен микопаразит *Ampelomyces quisqualis*, который развивается на мучнисторосяных грибах (представителях порядка Erysiphales, отдел Ascomycota). В нашем случае он был обнаружен в микропрепаратах эризифального гриба *Podosphaera aphanis* var. *aphanis* на листьях *Agrimonia eupatoria*.

Выявленная фитотрофная облигатно-паразитная микобиота на территории пробной площади зарегистрирована на 14 видах питающих растений из 12 родов, 6 семейств, 6 порядков отдела Покрытосеменные. Количественное распределение видов растений-хозяев и поражающих их грибов-паразитов по семействам высших растений представлено в таблице 2, из данных которой видно, что больше всего видов паразитных грибов зарегистрировано на представителях семейств Rosaceae и Poaceae (по 8 и 2 вида грибов-паразитов, соответственно для каждого семейства). Эти же семейства лидируют и по количеству видов растений-хозяев фитотрофной паразитной микобиоты на территории пробной площади. На долю семейств Rosaceae и Poaceae приходится соответственно по 6 и 2 вида питающих растений (табл. 2).

Табл. 2. Распределение фитотрофной облигатно-паразитной микобиоты пробной площади по семействам питающих растений

№ п/п	Семейство растений-хозяев	Количество	
		видов растений-хозяев	видов грибов
1.	<i>Apocynaceae</i>	1	1
2.	<i>Asteraceae</i>	1	1
3.	<i>Fagaceae</i>	1	1
4.	<i>Oleaceae</i>	1	1
5.	<i>Poaceae</i>	2	2
6.	<i>Rosaceae</i>	6	8

Таким образом, наибольшее количество видов грибов-паразитов приходится на семейства: *Poaceae* (2) и

Rosaceae (8), что составляет 72,0% от общего числа обнаруженных видов грибов.

Список литературы

1. Дудка И.О., Гелюта В. П., Тихоненко Ю. А. и соавт. Грибы природных зон Крыма. К: Фитосоциоцентр, 2004. – 452 с.

2. Купревич В. Ф., Ульянищев В. И. Определитель ржавчинных грибов СССР. – Минск: Наука и техника, 1975. – Ч. 1. – 485 с.

3. Ульянищев В. И. Определитель ржавчинных грибов СССР – Л.: Наука, 1978. – Ч. 2. – 384 с.

4. Гелюта, В. П. ФГУ. Мучнисторосяные грибы. – К: Наук. думка, 1989 – 256 с.

5. Каратыгин И.В., Азбукина З. М. Определитель грибов СССР. Порядок Головневые. Семейство Устилаговые – Л.: Наука, 1989. – Вып. 1. – 220 с.

6. Азбукина З. М. Порядок Ржавчинные. 1. Семейства Пукциниастровые, Кронарциевые, Мелампсоровые, Факоспоровые, Чакониевые, Микронегериевые (Определитель грибов России). – Владивосток: Дальнаука, 2015. – 281 с.

7. Termorshuizen A. J., Swertz C.A. Roesten van Nederland. – Dutch Rust Fungi, 2011. - 423 p.

8. Braun U., Cook R.T. Taxonomic Manual of the Erysiphales (Powdery Mildews) // CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands, 2012. – Vol. 11. - 707 p.

9. Благовещенская Е. Ю. Фитопатогенные микромицеты: учебный определитель. – М.: Ленанд, 2015. – 240 с.

10. Ена А. В. Природная флора Крымского полуострова. – Симферополь: Н. Ореанда, 2012. – 232 с.

11. Леонтьев Д. В. Флористический анализ в микологии: учебник. – Х.: Изд. группа «Основа», 2007. – 159 с.

СОХРАНЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ МАКРОМИЦЕТОВ В КОЛЛЕКЦИИ КУЛЬТУР
БАЗИДИОМИЦЕТОВ БОТАНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА ИМ. В.Л. КОМАРОВА РАН:
ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ

Псурцева Н.В., Кияшко А.А., Сенник С.В., Майорова И.В., Шахова Н.В., Белова Н.В.
Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

Коллекции культур (КК) играют важную роль в сохранении биологического материала (видов и штаммов) *ex situ*, который может быть использован в научных и

практических целях. Большинство крупных коллекций сохраняет различные типы организмов, включая, бактерии, грибы, дрожжи, водоросли, и т.д., в то время как

гораздо меньше КК специализируются на сохранении разнообразия определенного типа организмов, в частности, грибов. Коллекция культур базидиомицетов Ботанического института имени В. Л. Комарова (LE-BIN) – одна из немногих специализированных коллекций, содержащих только виды базидиальных и сумчатых макромицетов. LE-BIN была создана в конце 1950-х годов как исследовательская коллекция для изучения белков, ферментов и биологически активных соединений. В первые десятилетия существования в коллекции быстро увеличивалось штаммовое разнообразие видов-продуцентов различных биологически активных соединений. Однако с середины 90-х годов началось новое направление в развитии коллекции, обусловленное растущей необходимостью сохранения биоразнообразия на планете и мировыми тенденциями в области сохранения грибов [1]. Концепция развития коллекции включала сохранение *ex situ* разнообразия базидиомицетов с акцентом на сохранение редких и исчезающих видов в России, поддержание эктомикоризных грибов и культивирование видов, полезных для биотехнологии и медицины [2]. Разнообразие сумчатых макромицетов стало объектом сохранения в коллекции с начала этого века. Большинство штаммов коллекции LE-BIN являются оригинальными изолятами из различных регионов России, в основном, из заповедников и национальных парков, но есть и штаммы из других стран (Вьетнам, США, Финляндия, Украина и др.). Основные методы, применяемые в LE-BIN для поддержания и работы с культурами, а также важнейшие результаты изучения штаммов коллекционного фонда представлены в публикации [3].

Успех получения чистых культур макромицетов зависит от многих факторов. К сожалению, не все грибы можно легко изолировать в культуру. Основной «некультивируемой» группой являются эктомикоризные грибы (ЭМГ). Но даже при успешном получении культур ЭМГ, они растут очень медленно, часто достигают 20-30 мм в диаметре и прекращают рост. Тем не менее, в культуру было выделено значительное количество видов, в том числе, из родов *Suillus*, *Amanita*, *Clavariadelphus*, *Lactarius* и ряда других, изучены их рост, морфологические и культуральные характеристики, но многие из них потеряли жизнеспособность после нескольких лет содержания в коллекции. Наиболее сложным оказалось выделение и поддержание в коллекции штамма *Amanita phalloides*. В 2013 году во время экспедиции в Воронежскую область было собрано более 100 базидиом *A. phalloides*, и около половины самых молодых и свежих из них было использовано при попытке получить чистую культуру. В итоге был получен штамм LE-BIN 4016 (NCBI, MW036159). Для его поддержания в жизнеспособном состоянии требуется пересев каждые 3-4 месяца. Культуры грибов-сапротрофов, растущих в природе на различных органических субстратах, составляют основной фонд коллекции. Однако, некоторые виды и этой группы (например, из родов *Muscena*, *Volvariella*, *Pluteus*, *Tricholomopsis*) также являются проблемными для выделения в культуру. Успех выделения зависит не только от экологии или таксономии грибов, но от погоды и времени, прошедшего с момента сбора образцов до выделения, а также от условий работы.

Верификация штаммов является следующим важным этапом при использовании культур в научных и, особенно, практических целях. Проверка штаммов в коллекции LE-BIN проводится комплексно. Культуральные (ростовые, морфологические, биохимические) характеристики – основная и обязательная информация о

штаммах перед включением их в коллекцию. Они лежат в основе паспортов штаммов. Получение генеративной стадии в культуре является существенным вкладом в верификацию штаммов. К сожалению, лишь незначительное число видов макромицетов способно плодоносить в лабораторных условиях, как спонтанно на агаризованных средах, так и на специально приготовленных древесных субстратах при соблюдении необходимых условий. Наиболее надежным методом проверки штаммов является их секвенирование. Использование ПЦР-анализа в коллекции LE-BIN начиналось с секвенирования и депонирования в NCBI штаммов-объектов исследовательских проектов и публикаций, затем проводили секвенирование вновь поступивших штаммов, а в настоящее время мы стремимся секвенировать все штаммы фонда. Этот метод дает возможность уточнить таксономическую принадлежность штаммов или выявить заражение другим макромицетом. Благодаря этому методу десятки контаминированных штаммов были исключены из коллекции. К концу 2023 г. в GenBank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) было депонировано более 770 последовательностей ITS и LSU регионов DNA. Их можно найти в генбанке, используя алгоритм поиска по аббревиатуре коллекции LE-BIN.

Цель поддержания грибов в КК – сохранение чистоты, жизнеспособности и геномной целостности. Методы сохранения играют очень важную роль в успешном достижении этой цели. Сохранение каждого штамма в коллекции должно осуществляться не менее чем тремя методами параллельно. Основными методами сохранения в LE-BIN являются субкультивирование, хранение под дистиллированной водой и криоконсервация. Сравнительное изучение штаммов, сохраняемых *ex situ* разными методами показало, что криоконсервация, при условии сохранения жизнеспособности штамма, является наиболее надежным методом длительного хранения по сравнению с субкультивированием и хранением под водой. Проводятся исследования по выявлению причин вырождения штаммов в результате длительного хранения в коллекции или частых пересевов и механизмов регуляции процессов старения.

В настоящее время в коллекции LE-BIN содержится 3680 штаммов макромицетов 776 видов (без форм и разновидностей). Около 75% штаммов были идентифицированы на видовом и 21% на родовом уровнях. Остальные штаммы еще предстоит определить, что, вероятно, увеличит таксономическое разнообразие коллекции. Поскольку коллекция в течение многих лет специализировалась только на сохранении базидиомицетов, они составляют 98% от общего числа штаммов. Незначительное количество штаммов относится к сумчатым макромицетам из четырех классов (*Leotiomycetes*, *Orbiliomycetes*, *Pezizomycetes* и *Sordariomycetes*). Наиболее представлены *Sordariomycetes* (33 шт. 16 видов) и *Leotiomycetes* (32 шт. 17 видов). Всего в коллекции 42 вида из *Ascomycota*. *Basidiomycota* представлена 3598 шт. из классов *Agaricomycetes* (подавляющее большинство: 14 порядков и 94 семейства), *Dacrymycetes* (1 шт.) и *Tremellomycetes* (2 шт.). При этом около 78% штаммов агарикомицетов относятся к двум крупнейшим порядкам *Agaricales* (1764 шт., 401 вид) и *Polyporales* (1047 шт., 206 видов), которые также наиболее представлены семействами (35 из *Agaricales* и 25 из *Polyporales*) и родами (более 144 и 109, соответственно). Наибольшее количество штаммов присутствует в *Polyporaceae* (395 штаммов, около 72 видов). Наибольшее разнообразие штаммов принадлежит *Pleurotus pulmonarius* – 53 шт.

широкого географического происхождения. Следует отметить, что сильной корреляции между количеством штаммов и видов в коллекции и количеством представителей таксонов в семействах и порядках не существует, поскольку такое количество может зависеть от частоты встречаемости видов в природе, простоты получения и поддержания культур, специальных интересов исследователей и т.д. На сегодняшний день в коллекции сохраняется два экс-типа штаммов (LE-BIN 4081 *Collybiopsis boreoorientalis* и LE-BIN 2000 *Cruentomyces kedrovayae*), что является важной частью деятельности коллекции. Сохранение редких и исчезающих видов – еще один приоритет сохранения грибов в LE-BIN. В настоящее время фонд содержит штаммы 94 видов, охраняемых в России на региональном уровне, и 6 видов, включенных в Красную книгу Российской Федерации 2008 года [4], а именно: *Ganoderma lucidum* s. lat. (26 штаммов), *Grifola frondosa* (7 шт.), *Hericium flagellum* (4 шт.), *Pleurotus djambor* (5 шт.), *Sarcosoma globosum* (3 шт.) и *Sparassis crispa* (3 шт.).

Повышенное внимание уделяется также сохранению видов грибов с высоким биотехнологическим потенциалом и лекарственными свойствами. Отбор штаммов LE-BIN для оценки их биоресурсных свойств проводится с использованием эколого-таксономического подхода [5]. За годы исследования были достигнуты значительные результаты в поиске продуцентов оксидоредуктаз с лакказной и пероксидазной активностями, протеолитических ферментов с тромболитической и молокосвертывающей активностями, полисахаридов, липидов и вторичных метаболитов [3, 6]. Штаммы LE-BIN успешно использовались в различных биотехнологических исследованиях, с их применением зарегистрировано 27 авторских свидетельств и патентов, около 700 штаммов стали предметом исследований в научных публикациях.

Таким образом, значительное штаммовое и видовое разнообразие, а также наличие некоторых уникальных штаммов позволяют использовать коллекционный фонд LE-BIN в различных направлениях, от систематических и филогенетических исследований до биотех-

нологических разработок. В настоящее время видовое разнообразие базидиомицетов, хранящихся в LE-BIN, сопоставимо с крупнейшими коллекциями мира, такими как ATCC (США), CBS (Нидерланды), MUCL (Бельгия), DSMZ (Германия) и некоторыми другими.

Список литературы

1. Singh, S.K. Ex situ conservation of fungi: a review. In developments in fungal biology and applied mycology; Satyanarayana, T., Deshmukh, S., Johri, B., Eds; Springer: Singapore, 2017. 543–562.
2. Белова Н.В., Псурцева Н.В., Гачкова Е.Ю., Озерская С.М. Сохранение разнообразия базидиомицетов ex situ в специализированной Коллекции культур ЛЕ (БИН). Микология и фитопатология, 2005. 39 (2): 1–10.
3. Psurtseva N.V., Kiyashko A.A., Senik S.V., Shakhova N.V., Belova N.V. The conservation and study of macromycetes in the Komarov Botanical Institute Basidiomycetes Culture Collection — their taxonomical diversity and biotechnological prospects. Journal of fungi, 2023. 9 (12): 1196.
4. Red Book of Russian Federation (plants and fungi). KMK, 2008. 779–780.
5. 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. 41 (1): 57–78.
6. Sazanova, K.V.; Psurtseva, N.V.; Shavarda, A.L. Cultural and metabolomic studies of a new phthalids producer *Lignomyces vetlinianus*. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2018. 20 (11): 1031–1045.

ИЗУЧЕНИЕ РОДА *LACHNUM* RETZ. НА РОССИЙСКОМ ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ

Романцов С.А., Богачева А.В.

ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток

Объектом нашего изучения является сравнительно небольшая группа сумчатых грибов, характеризующаяся формированием плодовых тел по типу апотеция и наличием на внешнем слое его эксципула волосков, объединенных в семейство *Lachnaceae* Raitv. (Райтвийр, 1991). Ранее они были помещены в трибу *Lachneae* семейства *Hyaloscyphaceae*, пока эстонский миколог Айн Густавович Райтвийр (Ain Raitviir) в 2004 г. не нашел нужным повысить ранг этого таксона (Raitviir, 2004).

Семейство представлено на Дальнем Востоке России наиболее полно в видовом отношении, по сравнению со всеми остальными регионами России. Содержит в себе как сапротрофные, так и фитопатогенные виды. Наиболее широко и разнообразно представлен в регионе род *Lachnum* Retz. – более 40 видов. В коллекции фонда Дальневосточного регионального гербария (VLA) накоплен внушительный объем фактического материала его распространения и экологии.

Лакноидные грибы – деструкторы различных растительных остатков. Экологическая структура этой группы включает дереворазрушающие виды, поселяющи-

еся на хвойных и лиственных древесных породах. Ряд видов разлагает остатки травянистых растений – гербофильные виды. При этом существует некоторая слабая специализация. Описаны виды, разлагающие только злаковые культуры, или только осоки и т. д. Обнаружены также виды, поселяющиеся на лиственном опаде – филлофильные грибы (Шемаханова, 1962; Микориза растений, 1963; Alexopoulos et al. 1996). Иногда на растительных остатках можно обнаружить соседствующими сразу несколько видов данного рода. Это служит косвенным указанием на их сапротрофный тип питания, отсутствие патогенных качеств. Однако остается открытым вопрос о возможном паразитизме в анаморфной стадии развития. Для подтверждения или опровержения требуется больше информации об изучении жизненного цикла грибов.

Род *Lachnum* впервые предложен в 1779 г. шведским биологом Андерсом Яханом Ретциусом (A.J. Retzius), типовой вид – *Lachnum agaricinum* Retz. (Retzius, 1779). До недавнего времени он рассматривался в объеме обширного семейства *Hyaloscyphaceae* Boud. В настоящем

он выделен в самостоятельное семейство *Lachnaceae* в порядке *Helotiales* (Гелоциевые) класса сумчатых грибов *Leotiomycetes* (Леотииомицеты) (IndexFungorum, дата обращения 28.03.2024 г.).

Начиная с Юхана Акселя Наннфельдта (Johan Axel Nannfeldt) в 1932 г., общая систематика лахноидных грибов была пересмотрена неоднократно в зависимости от того, на что делался упор в интерпретации диагностических признаков. Так как таксономический состав рода довольно сложный, и взвешивание конкретных признаков у многих авторов своё, то для точного определения родовой и видовой принадлежности сейчас решающее значение имеет изучение морфологических признаков в контексте молекулярной филогении (Lutzoni, 2004).

Полномасштабное изучение лахноидных грибов на Дальнем Востоке началось в 60-е годы прошлого века микологом Айном Райтвиром, который совершил несколько экспедиций в данный регион и начал активный сбор образцов и опись аскомицетов, в том числе и представителей рода *Lachnum*. Он описал более десяти новых видов рода *Lachnum* (Raitviir, 1970, 1986).

По материалам его работы в 1991 г. был опубликован 2 том сводки «Низшие растения, грибы и мохообразные Советского Дальнего Востока», в котором дана структура части Дальневосточной микобиоты аскомицетов, снабженная ключами определения и диагностическими описаниями видов, выделено подсемейство *Lachnoideae* в составе *Hyaloscyphaceae*. С 1987 года соавтором публикаций А. Райтвира и исследователем дискомицетов, в том числе и лахноидных грибов, становится А.В. Богачева, сотрудник Биолого-почвенного института ДВО РАН (ныне – «Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН). За это время накоплен значительный фактический материал – более 500 гербарных образцов представителей семейства *Lachnaceae* из разных регионов Дальнего Востока, из них – около 300 гербарных образцов рода *Lachnum*.

По данным интернет-ресурса IndexFungorum, принятому большинством микологов в качестве основного, род *Lachnum* содержит в себе более 250 видов (IndexFungorum, дата обращения 28.03.2024 г.). Среди них не все прошли валидацию. Некоторые виды, описанные в прошлые века, на настоящий момент не соответствуют современному представлению об общей концепции рода. Обладая сходными морфологическими характеристиками, в достаточной степени они различаются генетически (Han, 2014). Специалистами из разных стран проводится работа по разрешению спорных вопросов таксономического разграничения видов с помощью молекулярно-генетического подхода, который позволяет достаточно быстро провести идентификацию (Hosoya, 2010; Quandt, 2021).

В России изучением данного семейства, как участника микобиоты различных территорий, в основном за-

нимаются сотрудники «Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН. С конца 2023 г. на базе данного учреждения начата работа по ревизии рода *Lachnum*. В ближайшие годы планируется провести работы по выявлению видового разнообразия лахноидных грибов дальневосточного региона с применением интегративного подхода. Для образцов с пограничными типологическими признаками, трудноразличимыми классическими микроскопическими методами, планируется проведение молекулярно-генетического анализа.

Данная работа поможет получить и обобщить важные научные сведения о структуре микологического разнообразия на Дальнем Востоке путем ревизии накопленного гербарного материала и пересмотра старых таксономических концепций и теорий в свете новых возможностей оборудования и методов исследований.

Список литературы

1. Райтвир А.Г. Порядок Helotiales Nannf. // Низшие растения, грибы и мохообразные Советского Дальнего Востока. – СПб., 1991. Т. 2. – 394 с.
2. Raitviir A. Revised synopsis of the Hyaloscyphaceae // Scripta Micologica - 2004 - 133 p.
3. Шемаханова Н. Микотрофия древесных пород / Н.М. Шемаханова – М.: Издательство Академии наук СССР - 1962 - 376 с.
4. Микориза растений / Сборник пер. из иностр. лит. с предисл. Н.В. Лобанова. // М.: Сельхозиздат – 1963 – 431 с.
5. Alexopoulos C. Introductory Mycology, 4th Edition / Alexopoulos C.J., Mims C.W., Blackwell M.M. // Wiley – 1995 – 880 p.
6. Retzius A. Florae Scandinaviae Prodromus; Enumerans: Plantas Sueciae, Lapponiae, Finlandiae et Pomeraniae ac Daniae, Norvegiae, Holsatiae, Islandiae Groenlandiaeque. Edn 1. – 1779 - 257 p.
7. IndexFungorum [http://www.indexfungorum.org/names/names.asp] (дата обращения 28.03.2024 г.)
8. Lutzoni F. Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits / F. Lutzoni, F. Kauff, C.J. Cox et al. // American Journal of Botany 91 (10) – 2004 – p. 1446-1480
9. Raitviir A. Synopsis of the Hyaloscyphaceae // Scripta Mycol. 1 – 1970 – p. 1-115
10. Raitviir A. Some new combinations into the genus Lachnum Retz. // Folia CryptogamicaEstonica 20 – 1986 - p. 1-2.
11. Han JG. Phylogenetic reassessment of Hyaloscyphaceae sensu lato (Helotiales, Leotiomycetes) based on multi-gene analyses / Han JG, Hosoya T, Sung GH, et al. // Fungal Biology 118 – 2014 – p. 150-167.
12. Hosoya T. Molecular phylogenetic studies of Lachnum and its allies based on the Japanese material / Hosoya T, Sasagawa R, Hosaka K et al. // Mycoscience 51 – 2010 – p. 170-181
13. Quandt C. Phylogenetic Advances in Leotiomycetes, an Understudied Clade of Taxonomically and Ecologically Diverse Fungi / C.A. Quandt, D. Haelewaters // Encyclopedia of Mycology, Volume 1 - 2021

РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ АГАРИКОИДНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ, ОТМЕЧЕННЫХ НА ДРЕВЕСИНЕ В ОРЕНБУРГСКОЙ ОБЛАСТИ

Сафонов М. А.

Оренбургский государственный университет

Грибы-макромицеты способны получать питательные вещества за счет разложения мертвой органики или образуя микоризу с растениями. Сапротрофы могут заселять разнообразные субстраты – почву, опад,

древесные остатки. Некоторые виды встречаются на ослабленных вегетирующих деревьях. Древесина является специфичным субстратом для грибов, которые обладают соответствующей гарнитурой ферментов –

целлюлаз. Древоразрушающие грибы преимущественно относятся к так называемым афиллофороидным грибам – группе, разнородной систематически и физиономически. Наиболее типичными представителями трофической группы ксилотрофных грибов являются трутовые грибы, базидиомы которых имеют плотную консистенцию; у ряда представителей базидиомы многолетние, что облегчает учет присутствия таких видов в биотопах. Прочие афиллофороидные грибы имеют более хрупкие плодовые тела. С точки зрения типа гименофора, афиллофороидным грибам как бы противопоставляются агарикоидные грибы, имеющие пластинчатый гименофор, но имеющие менее долгоживущие плодовые тела. Это затрудняет изучение видового разнообразия агарикоидных ксилотрофов, так как результативность исследования зависит от совпадения времени проведения исследований с периодичностью формирования их базидиом.

Цель нашего исследования – анализ материалов о видовом составе, распространении и экологии агарикоидных древоразрушающих грибов в Оренбургской области. В основу анализа легли данные, полученные в лесах различных районов Оренбургской области в 1994–2023 гг. в ходе целенаправленного изучения биоты афиллофороидных грибов.

Согласно исследованиям О.А.Десятовой [1], на территории Оренбургской области выявлено 312 видов агарикоидных базидиомицетов, относящихся к 64 родам, 17 семействам и 5 порядкам. По нашим данным [2], разнообразие афиллофороидных базидиомицетов региона составляет 261 вид, относящийся к 121 роду, 43 семействам и 11 порядкам класса *Agaricomycetes*. Прогнозная оценка общего биоразнообразия грибов региона составляет около 850 видов [3].

По нашим данным, в регионе на древесине встречается 47 видов агарикоидных грибов, относящихся к 19 родам и 10 семействам порядка *Agaricales*. Наиболее многочисленные семейства – *Strophariaceae* и *Polyporaceae* (по 12 видов). Наиболее многовидовые рода: *Pholiota*, *Polyporus* (по 7 видов), *Pleurotus* (5 видов).

Виды с мелкими плодовыми телами преимущественно ассоциированы с мелким и средним веточным отпадом (виды родов *Crepidotus*, *Panellus*). На сильно разложившейся древесине и на почве отмечены *Collybia dryophylla* (Bull.) P. Kumm., *Hymenopellis radicata* (Rehhan) R.H. Petersen, *Psathyrella candolleana* (Fr.) Maire, виды рода *Pluteus*.

На вегетирующих ослабленных деревьях встречаются *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *Pleurotus dryinus* (Pers.) P. Kumm., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel., *Pholiota alnicola* (Fr.) Sing., *Polyporus squamosus* (Huds.) Fr.

Остальные виды встречаются на крупномерном валеже и пнях различных родов деревьев, преимущественно лиственных. На хвойных отмечено только 4 вида агарикоидных грибов.

Большая часть видов приурочена к насаждениям естественного происхождения – спелым и перестойным. Для старовозрастных лесов характерны такие виды, как *Volvariella bombycina* (Schaeff.) Sing., *Lentinus tigrinus* (Bull.) Fr., *Panus neostrogosus* Drechsler-Santos &

Wartchow, *Polyporus melanopus* (Pers.) Fr., *Royoporus badius* (Pers.) A.B. De.

Некоторые виды (*Hemipholiota populnea* (Pers.) Bon, *Pleurotus dryinus* (Pers.) P. Kumm., *P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) встречаются преимущественно или исключительно в пойменных лесах.

Самыми распространенными видами, отмеченными в лесах степной и лесостепной зон, являются *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm., *Crepidotus mollis* (Schaeff.) Stauder, *Kuehneromyces mutabilis* (Schaeff.) Singer et A.H.Sm., *Neolentinus cyathiformis* (Schaeff.) Della Maggiore & Trassinelli, *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel.

В городских условиях разнообразие древоразрушающих грибов значительно ниже, чем в нативных лесных экосистемах. Причины этого – природно-климатические условия городской среды, бедный видовой состав древесных растений, используемых при озеленении, мало количество потенциально заселяемых субстратов [4]. Разнообразие агарикоидных грибов, отмеченных в городских условиях, также не велико. Наиболее распространенным видом в городах региона является *Polyporus squamosus* (Huds.) Fr. Вероятно, этот вид вполне адаптирован к условиям города и способен накапливать поллютанты, в частности – тяжелые металлы, без вреда для себя [5].

Многие виды агарикоидных ксилотрофных грибов имеют потенциальную ценность в качестве источника лекарственных препаратов, могут употребляться в пищу, а также могут быть использованы для биоконверсии отходов сельского хозяйства. Это определяет необходимость дальнейшего изучения видового разнообразия и экологии этой группы базидиальных грибов.

Список литературы

1. Десятова О.А. Агарикоидные базидиомицеты Оренбургской области. – автореф. дисс.канд.биол.наук, – спец. 03.00.24 – Микология. – М: МГУ, 2008. – 26 с.
2. Сафонов М.А. Список древоразрушающих базидиальных грибов Оренбургского Приуралья (Россия) // Вестник Оренбургского Государственного Педагогического Университета. – Электронный научный журнал (Online). ISSN 2303-9922. <http://www.vestospu.ru>, 2015. №2 (14). – С.11-28.
3. Safonov, M., Filippova, A., Safonova, T., Bulgakova, M. (2023). Accounting Potential as a Key to Prediction of Regional Fungal Biodiversity. In: Beskopylny, A., Shamtsyan, M., Artiukh, V. (eds) XV International Scientific Conference “INTERAGROMASH 2022”. INTERAGROMASH 2022. Lecture Notes in Networks and Systems, vol 575. Springer, Cham. DOI: 10.1007/978-3-031-21219-2_256
4. Сафонов М.А. Синантропизация биоты грибов-макромицетов в Южном Предуралье // Вестник Оренбургского Государственного Педагогического Университета. – Электронный научный журнал (Online). ISSN 2303-9922. <http://www.vestospu.ru>, 2018. №2 (26). – С.72-81. DOI: 10.32516/2303-9922.2018.26.4
5. Пушкарева Л. В., Широких А. А. Биоаккумуляция тяжелых металлов плодовыми телами древоразрушающего гриба *Polyporus squamosus* // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: Материалы X Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Книга 1. (г. Киров, 4–5 декабря 2012 г.). Киров: ООО «Лобань», 2012. – С. 232-236.

ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ О МИКСОМИЦЕТАХ (МУХОМУСЕТЕС) КУПАНСКОГО ЛЕСНИЧЕСТВА (НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПАРК «ПЛЕЩЕЕВО ОЗЕРО», ЯРОСЛАВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Сакулин С.В.¹, Гмошинский В.И.², Кондакова Г.В.¹

¹Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Национальный парк «Плещеево озеро» (НП) расположен в Ярославской области, на границе подзон южной тайги и смешанных лесов, в 130 км к северо-востоку от Москвы. Общая площадь ООПТ составляет более 24 тыс. га. В настоящее время сведения о видовом разнообразии миксомицетов практически отсутствуют, лишь на территории памятника природы «Дубрава деревень Чашницы, Ям», северном берегу озера Плещеево и в местечке «Касарка» отмечены *Fuligo septica* (L.) F.H. Wigg. и *Stemonitis axifera* (Bull.) T. Macbr. [1,2,3].

В 2023 г. было заложено 7 пробных площадок в четырёх кварталах Купанского участкового лесничества, расположенных в пределах НП, в районе северного побережья озера Плещеево (табл. 1). Камеральную обработку собранного материала осуществляли в лаборатории факультета биологии и экологии ЯрГУ, определение образцов проводили на основании изучения морфологических признаков спороношений [4]. Таксономическая структура приведена в соответствии с концепцией К. Ладо и У. Элиассона [5]. Собранные образцы депонированы в коллекцию миксомицетов кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ (МУХ).

Табл. 1. Учётные площадки на территории Купанского лесничества национального парка «Плещеево озеро»

Номер пробной площадки	Краткая характеристика растительной ассоциации	Квартал Купанского лесничества	Координаты		Дата сбора материала
			Широта	Долгота	
1	Сосняк с берёзой брусничный	36	56.816109°	38.763917°	11.VIII.2023 23.IX.2023
2	Чёрноольшанник тростниковый	51	56.814367°	38.766495°	11.VIII.2023 23.IX.2023
3	Липняк с клёном с примесью берёзы и сосны	37	56.818538°	38.769837°	21.VII.2023 23.IX.2023
4	Сосняк сфагновый	51	56.811737°	38.778586°	02.VIII.2023 23.IX.2023
5	Ельник сложный	51	56.812105°	38.780959°	21.VII.2023 23.IX.2023
6	Сосняк черничный	52	56.809517°	38.781749°	02.VIII.2023 23.IX.2023
7	Ивняк снытево-разнотравный	52	56.799643°	38.800743°	02.VIII.2023 23.IX.2023

Ниже приводится аннотированный список выявленных видов. Таксоны расположены в алфавитном порядке. Для каждого из них указаны данные о количестве образцов (в скобках), сведения о субстрате и номере пробной площадки (loc.), а также ваучерный номер в коллекции (МУХ). Номенклатура соответствует базе данных Nomenmyx [6].

1. *Arcyria affinis* Rostaf. (5) – на лишённых коры крупных ветвях и стволах лиственных деревьев; loc. 2, 3, 5, 7. МУХ 23611.

2. *Arcyria cinerea* (Bull.) Pers. (3) – на гнилой древесине хвойного дерева, на коре и древесине крупных ветвей лиственного дерева; loc. 5, 7. МУХ 23612.

3. *Arcyria congesta* (Sommerf.) Berk. & Broome (1) – на тонких мёртвых ветвях хвойного дерева лишённых коры; loc. 1. МУХ 23613.

4. *Arcyria denudata* (L.) Wettst. (2) – на гнилой древесине лиственного дерева; loc. 5. МУХ 23614.

5. *Arcyria incarnata* (Pers. ex J.F. Gmel.) Pers. (2) – на гнилой древесине хвойного дерева, на крупных мёртвых ветвях хвойного дерева, лишённых коры; loc. 6. МУХ 23615.

6. *Arcyria obvelata* (Oeder) Onsberg (2) – на гнилой древесине хвойных и лиственных деревьев; loc. 3, 4. МУХ 23616.

7. *Arcyria pomiformis* (Leers) Rostaf. (3) – на коре и древесине мёртвых стволов, ветвей хвойных и лиственных пород деревьев; loc. 6, 7. МУХ 23617.

8. *Arcyria stipata* (Schwein.) Lister (2) – на гнилой древесине стволов и ветвей лиственных пород деревьев; loc. 1, 5. МУХ 23618.

9. *Comatricha laxa* Rostaf. (1) – на гнилой древесине хвойного дерева; loc. 1. МУХ 23619.

10. *Craterium leucocephalum* (Pers. ex J.F. Gmel.) Ditmar (1) – на опаде лиственных пород деревьев; loc. 7. МУХ 23620.

11. *Craterium minutum* (Leers) Fr. (1) – на опаде; loc. 7. МУХ 23621.

12. *Cribraria argillacea* (Pers. ex J.F. Gmel.) Pers. (3) – на гнилой древесине хвойных пород деревьев; loc. 4, 6. МУХ 23622.

13. *Diachea leucopodia* (Bull.) Rostaf. (1) – на листовом опаде; loc. 2. МУХ 23623.

14. *Didymium melanospermum* (Pers.) T. Macbr. (3) – на листовом опаде и коре мёртвого лиственного дерева; loc. 3, 6, 7. МУХ 23624.

15. *Didymium nigripes* (Link) Fr. (4) – на коре мёртвых ветвей хвойного дерева, на отпаде коры сосны, на листовом опаде; loc. 1, 5, 6. МУХ 23625.

16. *Didymium squamulosum* (Alb. & Schwein.) Fr. & Palmquist (3) – на опаде (листья клёна и берёзы), на живых травянистых растениях; loc. 3, 7. МУХ 23626.

17. *Enerthenema papillatum* (Pers.) Rostaf. (10) – на тонких ветвях и стволах хвойных и лиственных деревьев, лишённых коры; loc. 1, 4, 5, 6, 7. МУХ 23627.

18.1. *Fuligo septica* (L.) F.H. Wigg. (2) – на гнилой древесине лиственных пород деревьев; loc. 5. МУХ 23629.

18.2. *Fuligo septica* var. *candida* (Pers.) R.E. Fr. (1) – на почве, покрытой мхами рода *Sphagnum* spp.; loc. 6. МУХ 23628.

19. *Hemitrichia calyculata* (Speg.) M.L. Farr (1) – на гнилой древесине берёзы; loc. 5. МУХ 23630.

20. *Hemitrichia clavata* (Pers.) Rostaf. (4) – на лишённых коры гнилых стволах и тонких ветвях лиственных деревьев; loc. 5, 7. МУХ 23631.

21. *Hemitrichia decipiens* (Pers.) García-Cunch., J.C. Zamora & Lado (5) – на гнилой древесине мёртвых лиственных деревьев, на коре мёртвых хвойных деревьев; loc. 3, 4, 5. МУХ 23632.

22. *Leocarpus fragilis* (Dicks.) Rostaf. (2) – на кусках коры хвойного дерева, на древесине мёртвой берёзы; loc. 4, 5. MYX 23633.
23. *Licea variabilis* Schrad. (1) – на гнилой древесине хвойных деревьев; loc. 6. MYX 23634.
24. *Metatrichia vesparia* (Batsch) Nann.-Bremek. (1) – на гнилой древесине лиственного дерева; loc. 5. MYX 23635.
25. *Nannengaella contexta* (Pers.) J.M.García-Martín, J.C. Zamora & Lado (5) – на опаде, на коре живых деревьев и на мёртвых ветвях, покрытых корой; loc. 2, 7. MYX 23636.
26. *Oligonema aurantium* Nann.-Bremek. (1) – на опаде берёзы; loc. 3. MYX 23637.
27. *Oligonema persimile* (P. Karst.) García-Cunch., J.C. Zamora & Lado (1) – на стволах мёртвой берёзы, покрытых корой; loc. 6. MYX 23638.
28. *Physarum album* (Bull.) Chevall. (15) – на мёртвой коре и гнилой древесине хвойных и лиственных пород; loc. 3, 4, 5, 6, 7. MYX 23639.
29. *Physarum viride* (Bull.) Pers. (4) – на гнилой древесине хвойных и лиственных пород деревьев; loc. 2, 4, 6, 7. MYX 23640.
30. *Stemonitis axifera* (Bull.) T. Macbr. (7) – на гнилой древесине хвойных и лиственных пород деревьев, на гнилом пне лиственного дерева; loc. 3, 5, 6, 7. MYX 23641.
31. *Stemonitis fusca* Roth (3) – на веточном опаде хвойных деревьев, лишенных коры; loc. 1. MYX 23642.
32. *Stemonitis splendens* Rostaf. (3) – на гнилой древесине лиственных и хвойных деревьев; loc. 4, 7. MYX 23643.
33. *Stemonitopsis hyperopta* (Meyl.) Nann.-Bremek. (3) – на гнилой древесине лиственных и хвойных деревьев; loc. 4, 6, 7. MYX 23644.
34. *Stemonitopsis typhina* (F.H. Wigg.) Nann.-Bremek. (2) – на гнилой древесине лиственного дерева; loc. 3, 7. MYX 23645.
35. *Trichia scabra* Rostaf. (1) – на гнилой древесине лиственного дерева; loc. 7. MYX 23646.
36. *Trichia varia* (Pers. ex J.F. Gmel.) Pers. (7) – на древесине и коре мёртвых лиственных деревьев и на крупных ветвях лиственного дерева, лишённых коры; loc. 3, 5, 7. MYX 23647.
37. *Tubifera ferruginosa* (Batsch) J.F. Gmel. (2) – на мёртвом берёзе, на гнилой древесине хвойного дерева; loc. 3, 5. MYX 23648.

За летне-осенний период 2023 г. собрано 197 образцов, 118 из которых идентифицированы до вида. По итогам проведённого исследования видовое разнообразие миксомицетов Купанского лесничества НП составило 37 видов из 4 порядков, 8 семейств и 19 родов (табл. 2).

Наибольшее видовое разнообразие отмечено для порядка Trichiales (16 видов; 43,24% от общей биоты), в котором ведущим является род *Arcyria* (8 видов). Порядки Physarales (11; 29,73%), Stemonitidales (7; 18,92%) и Cribrariales (3; 8,11%) представлены меньшим числом видов. Следует отметить, что полученные результаты носят лишь предварительный характер. Проведение многолетних исследований в течение всего бесснежного периода позволит выявить гораздо большее число видов.

Все выявленные таксоны, за исключением *Fuligo septica* и *Stemonitis axifera*, приводятся для НП впервые.

Табл. 2. Таксономическая структура миксомицетов Купанского лесничества национального парка «Плещеево озеро»

Порядок	Семейство	Род
Cribrariales (3)	Cribrariaceae (1)	<i>Cribraria</i> (1)
	Liceaceae (1)	<i>Licea</i> (1)
	Reticulariaceae (1)	<i>Tubifera</i> (1)
Trichiales (16)	Arcyriaceae (8)	<i>Arcyria</i> (8)
	Trichiaceae (8)	<i>Hemitrichia</i> (3) <i>Metatrichia</i> (1) <i>Oligonema</i> (2) <i>Trichia</i> (2)
Physarales (11)	Didymiaceae (4)	<i>Diachea</i> (1) <i>Didymium</i> (3)
	Physaraceae (7)	<i>Craterium</i> (2) <i>Fuligo</i> (1) <i>Leocarpus</i> (1) <i>Nannengaella</i> (1) <i>Physarum</i> (2)
Stemonitidales (7)	Stemonitidaceae (7)	<i>Comatricha</i> (1) <i>Enerthenema</i> (1) <i>Stemonitis</i> (3) <i>Stemonitopsis</i> (2)

Примечание: в скобках указано число видов.

Список литературы

1. Комплексная биоэкологическая оценка состояния леса в местечке «Касарка» на территории Национального парка «Плещеево озеро»: промежуточный отчет по второму этапу науч.-исслед. работы / Отв. ред. О.А. Маракаев. – Ярославль: ЯрГУ, 2017. – 98 с.

2. Комплексная биоэкологическая оценка состояния памятника природы «Дубрава деревень Чашницы, Ям»: отчет о науч.-исслед. работе / Отв. ред. О.А. Маракаев. – Ярославль: ЯрГУ, 2016. – 151 с.

3. Комплексная биоэкологическая оценка состояния северного побережья озера Плещеево: промежуточный отчет о науч.-исслед. работе / Отв. ред. О.А. Маракаев. – Ярославль: ЯрГУ, 2020. – 170 с.

4. Гмошинский В.И., Дунаев Е.А., Киреева Н.И. Определитель миксомицетов Московского региона: учеб.-метод. пособие. – М.: Культурно-просветительский центр «Архэ», 2021. – 388 с.

5. Lado C., Eliasson U. Taxonomy and systematics: current knowledge and approaches on the taxonomic treatment of Myxomycetes // In: Myxomycetes: Biology, Systematics, Biogeography, and Ecology. London (Stephenson S.L., Rojas C. eds.): Academic Press, 2017. P. 205–251.

6. Lado C. 2005–2024. An on line nomenclatural information system of Eumycetozoa. Real Jardín Botánico, CSIC. Madrid, Spain. <https://eumycetozoa.com> (20.03.2024).

СУИЛЛЮСОВЫЕ ГРИБЫ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО СЕВЕРА (НА ПРИМЕРЕ МАГАДАНСКОЙ ОБЛАСТИ)

Сазанова Н. А.¹, Звягина Е. А.²

¹Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, Магадан

²Югорский государственный университет, Ханты-Мансийск

Суиллюсовые грибы широко распространены в умеренном поясе Северного, реже Южного полушарий. Наибольшим богатством видов характеризуются роды *Suillus* (масленок) и *Boletinus* (решетник). По данным Международной базы по биоразнообразию [1] в мировом масштабе семейство **Suillaceae** содержит 285 когда-либо описанных видов: **BASIDIOMYCOTA**, **Agaricomycetes**, **Boletales**, **Suillaceae**: *Boletinus* – 16, *Fuscoboletinus* – 1, *Gastrosuillus* – 2, *Ixocomus* – 1, *Psiloboletinus* – 1, *Suillus* – 260, *Truncocolumella* – 4. Систематика внутри группы неустойчива. Последнее время с активным применением молекулярно-генетических методов в микологии произошло много изменений, пересматриваются объемы родов, семейств, открываются новые таксоны. Некоторые морфологически схожие, близкородственные виды могут рассматриваться в разных семействах или внутри разных родов. В то же время, остаются ранее описанные виды, которые невозможно подтвердить или проверить.

Суиллюсовые грибы – одна из самых многочисленных групп среди трубчатых грибов на Севере Дальнего Востока. Являясь строго приуроченными микоризообразователями хвойных пород, они играют большую роль в формировании зональных лесов. Основными лесообразующими породами дальневосточного Севера являются лиственница Каяндера (*Larix cajanderi*) и кедровый стланик (*Pinus pumila*). Имеются также небольшие интродуцированные участки сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*).

Практически все виды относятся к съедобным грибам с разной степенью пищевой ценности, хотя в Японии некоторые, активно собираемые в России, например, *S. placidus*, *S. spectabilis*, *S. viscidus* считаются ядовитыми, вызывая желудочно-кишечные расстройства [2].

Маслята, казалось бы, самые обычные грибы, порой достаточно сложно идентифицируются. Поэтому всегда преследовалась цель уточнить и разобраться в проблематичных видах с использованием молекулярно-генетических методов.

По литературным данным для России указывается 37 видов маслят (*Suillus* и *Boletinus*) [3], для Магаданской области ранее отмечалось 25 видов [4]. На данный период сводная таблица содержит 35 таксонов суиллюсовых грибов, когда-либо указанных для Магаданской области. Некоторые виды, возможно, следует исключить: *Boletinus oxydabilis* приведен ошибочно, североамериканские виды *Suillus albidipes*, *S. granulatus* subsp. *snellii*, *S. subaureus* пока не подтверждены находками, *S. flavidus* ограничен зоной распространения сосны обыкновенной, *S. tridentinus* переопределен как *S. aurihymenius*, *S. sibiricus* является синонимом *S. americanus*. Отдельные виды до сих пор остаются дискуссионными: *S. acidus*, *S. cavipes*, *S. pseudobrevipes*, *S. subluteus*, *S. viscidus* s.l.

Заносными видами, растущими с 2-хвойным соснами (сосновые маслята) в Магаданской области являются *S. bovinus* и *S. varigatus*. Они встречаются в окрестностях Магадана на интродуцированных участках сосны

обыкновенной, являются доминантами и характеризуются высокой продуктивностью.

Группа кедровниковых маслят насчитывает 10 видов. Они широко распространены по всему дальневосточному Северу и ассоциированы с 5-ти хвойными соснами: *S. cf. acidus*, *S. americanus*, *S. placidus*, *S. plorans*, *S. punctipes*, *S. spraguei*, *S. cf. subluteus*. В последнее время по последовательностям ДНК, выделенным из почвенных проб Магаданской области по международной программе «Глобальные почвенные микробиомы», внесены в базу данных GBIF и приводятся еще три вида *S. tomentosus* (американский вид из группы *plorans-punctipes* с войлочной шляпкой), *S. brunnescens*, *S. cf. pseudobrevipes* [5].

Группа лиственничных маслят наиболее многочисленная. Повсеместно в лиственничниках растет *S. grevillei*, встречается только темноокрашенная форма (*f. badius* = *S. clintonianus*). Характерный признак – плотная кожица на шляпке, пленчатое желтое кольцо и мелкие поры. С ним имеют сходство другие похожие виды *S. aurihymenius* и *S. glandulosus*, слабо различимые во взрослом состоянии. Филогенетический анализ образцов, собранных ранее на территории Магаданской области и определенных как *S. tridentinus*, но отличающихся широкими порами, оранжевым или желто-оранжевым оттенком гименофора и войлочным покрывалом, позволил подтвердить их принадлежность к описанному ранее из Китая виду *S. aurihymenius* [6].

Образцы со слизистым покрывалом, кирпично-красной тонкой кожицей шляпки, желтым гименофором и широкими порами идентифицированы как североамериканский вид *S. glandulosus*. Молекулярно-генетический анализ показал высокое сходство нуклеотидных последовательностей азиатских и американских образцов. Вопрос о микоризном хозяине в пределах ареала остается спорным, чаще распространение вида связывают с пихтовыми или еловыми лесами. Однако на дальневосточном Севере вид вступает в симбиоз с лиственницей. Плодовые тела *S. glandulosus* были обнаружены в сростках с *Gomphidius borealis*, что подтверждает возможность тройной ассоциации *S. glandulosus*, *G. borealis* и *Larix cajanderi*, подобно как наблюдается тройственная микориза у *S. bovinus*, *G. roseus* и *Pinus sylvestris*. *S. glandulosus* – типичный берингийский вид. В России, кроме Магаданской области отмечен на Сахалине, в Хабаровском крае и Иркутской обл. [7]. Характерным представителем лиственничных лесов Магаданской области является *S. spectabilis*, чешуйки на слизистой шляпке отличают его от *S. glandulosus*.

Из группы решетников с широкими порами и сухими войлочными шляпками зарегистрированы *S. asiaticus*, *S. cavipes* s.l., *S. paluster* и *S. ochraceoroseus*. До последнего времени в России было принято относить к *S. paluster* образцы с крупными и мелкими базидиомами. Находки *S. paluster* неоднократно приводились для территории России от Дальнего Востока и Сибири до севера европейской части [3]. Однако диагноз типичного американского *Fuscoboletinus paluster* включает мелкие экземпляры

ры, морфологической особенностью которых являются выраженные радиальные ребра гименофора. На основе филогенетического анализа было подтверждено присутствие на территории Российского Дальнего Востока двух видов *S. paluster* и *S. ochraceoroseus*. *S. paluster* – вид с мелкими базидиомами предпочитает влажные заболоченные местообитания (что отражает его непосредственное название), растет, как правило, скученными группами и имеет более ровную яркую красно-малиновую окраску шляпки, более широкие поры и выраженные ребра гименофора. Он отмечен лишь на Дальнем Востоке (Магаданская область, Камчатский край), Восточной Сибири (республика Саха (Якутия)) и на севере Китая. Напротив, *S. ochraceoroseus* – вид с крупными базидиомами, с розово-охристой шляпкой, светло-желтой мякотью, иногда синеющей на разрезе, распространен по всей Азиатской части России и отмечен в лиственничных посадках европейской части [8].

Типичными представителями лиственничных лесов является группа серых маслят: *S. viscidus* s.l., *S. bresadolae*. В 2019 г. из Магаданской области описан новый для науки вид с секотииоидной базидиомой – *Suillus gastroflavus* [9]. Гастероидные формы маслят до последнего времени были известны только из Северной Америки, при этом, большинство из них отмечались крайне редко. По морфологии и генетике вид существенно отличается от известных для Америки гастероидных маслят. По молекулярно-генетическим данным вид тесно связан с группой серых маслят, американские же виды относятся к группе *S. grevillei*. Это третий известный во всем мире секотииоидный вид рода *Suillus* (2 вида указаны для Северной Америки) и первый таксон – для Евразии. Заслуживает большого внимания к включению в региональную Красную книгу.

В Магаданской области встречается еще один интереснейший вид, указанный ранее как *S. flavus* или *S. nueschii*. Базидиомы крупные с ярко-желтой слизистой шляпкой и с красными крапинами, двойным слизисто-пленчатым кольцом и серым гименофором. Филогенетический и морфологический анализ показал принадлежность североазиатских коллекций с указанными признаками к неопisanному ранее виду, в настоящее время ведется работа по его публикации.

Ближайший к маслятам вид *Psiloboletinus lariceti*, образующий микоризу с лиственницей, обнаружен в континентальной части Магаданской области. Азиатский эндемик, широко представлен на юге ДВ, ареал доходит до юга Западной Сибири, указан для Урала (Свердловская область). Недавно отмечен в Китае. Можно высказать предположение, что в Азии вид некогда имел более широкий ареал, но после серии оледенений ареал сократился, небольшая дизъюнкция уцелела на территории дальневосточного Севера, подобно еловому острову в долине р. Яма. Вид, безусловно, реликтовый, для северных территорий редкий, явный претендент для следующего издания Красной книги Магаданской области.

В формировании биоты суиллюсовых грибов на территории Северо-Востока России большую роль сыграла древняя Берингия. Основное ядро составляют широко распространенные голарктические и азиатско-североамериканские виды. Некоторые азиатско-североамериканские виды продвинулись далеко на запад, до Урала и даже европейской части. Миграционный поток с запада на восток значительно меньше. Азиатских видов не так

много. Во времена теплого климата, возможно, их ареалы в пределах Азии были значительно шире, сейчас сохранились лишь дизъюнктивные участки.

В Гербарии ИБПС ДВО РАН (MAG) хранится около 400 образцов маслят, в том числе голотипы описанных видов. Ряд дубликатов и параголотипы переданы в микологический гербарий БИН РАН (LE).

Новые данные по суиллюсовым грибам Магаданской области получены благодаря комплексному подходу, сочетающему классические морфологические и молекулярно-генетические методы. Продуктивная коллаборация специалистов Института биологических проблем Севера ДВО РАН, Ботанического института имени И. Л. Комарова РАН, Южного научного центра РАН и Югорского государственного университета помогает продвигаться в вопросах идентификации и таксономии представителей данной не простой группы.

Список литературы

1. Suillaceae in GBIF Secretariat (2023). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2024-03-04.
2. Poisonous fungi in Japan. Field Best Encyclopedia, 1995. V.14. 28p.
3. 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. Biological Communications. V. 66 (4). P. 316–325. <https://doi.org/10.21638/spbu03.2021.404>.
4. Сазанова Н.А. Макромицеты Магаданской области. Магадан: СВНЦ ДВО РАН, 2009. 196 с.
5. Vasar M., Davison J., Sepp S. et al. (2022). Global soil microbiomes: A new frontline of biome-ecology research. PlutoF. Occurrence dataset <https://doi.org/10.1111/geb.13487> accessed via GBIF.org on 2024-03-26.
6. Rebriev Yu.A., Bogacheva A.V., Bulakh E.M. et al. (2021). New species of macromycetes for regions of the Russian Far East. 2 // Микология и фитопатология. Т. 55, № 5. С. 318–330. DOI: 10.31857/S002636482105007X.
7. Zvyagina E.A., Sazanova N.A. (2022). The first record of *Suillus glandulosus* (Suillaceae) in Russia from Magadan Region // Микология и фитопатология. Т.56, № 1. С. 16–21. DOI: 10.31857/S0026364822010147.
8. Zvyagina E.A., Sazanova N.A., Bulyonkova T.M. (2022). *Suillus paluster* and *S. ochraceoroseus* (Boletales) in North Asia // Микология и фитопатология. Т. 56, № 5. С. 332–349. DOI: 10.31857/S0026364822050129.
9. Crous, P.W. et al. incl. Zvyagina E. A., Rebriev Yu. A., Sazanova N. A. et Malysheva E. F. (2019). Fungal Planet description sheets: 868–950. Persoonia. V. 42. P. 291–473. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2019.42.11>.

МИКРОМИЦЕТЫ НА ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЯХ

Ширнина Л.В.

Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии», Воронеж

В Центральном Черноземье выявлены два вида грибов, относящихся к двум родам редко встречающихся микромицетов.

Stegosporiopsis cenangioides (Ellis et Rothr.) Van Warmelo [= *Camarographium abietis* (M.Wilson et R.B. Anderson) Grove] обнаружен в дендрарии Липецкой лесной опытно-селекционной станции (ЛОСС, с. Ланское, Липецкой области) на семи интродуцированных видах пихты [1], на коре и в листовых следах мелких усохших ветвей живых деревьев. На рисунке 1 показаны формы спороношений гриба.

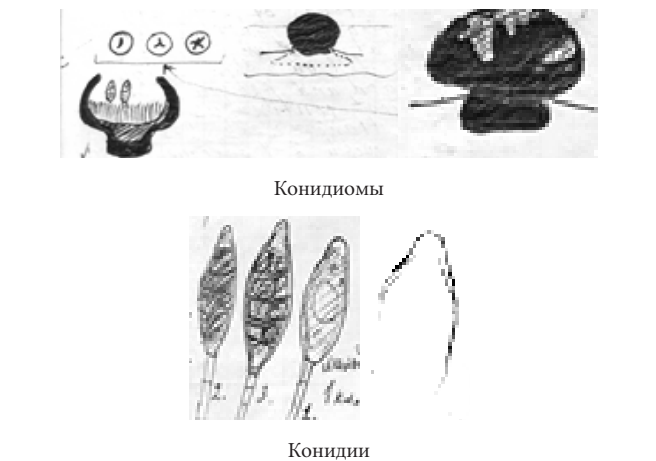


Рис. 1. *Stegosporiopsis cenangioides* (Ellis et Rothr.) Van Warmelo (оригинальный образец автора)

Табл. 1. Специализация *Stegosporiopsis cenangioides* (Ellis et Rothr.) Van Warmelo на видах рода *Abies* Hill.

Вид пихты	Страна, год обнаружения	Автор(ы)
<i>Abies alba</i> Mill	Шотландия, 1923	Wilson et Anderson, 1923
<i>A. balsamea</i> (L.) Mill.	Россия, 1974	Ширнина, 1979
<i>A. concolor</i> Lindl. et Gard.	Норвегия, 2009	Talgo, Thomsen, 2017
<i>A. holophylla</i> Maxim.	Россия, 1974	Ширнина, 1979
<i>A. homolepis</i> Sieb. Et Zucc.	Россия, 1974	Ширнина, 1979
<i>A. lasiocarpa</i> Nutt.	Канада, 1973 Канада, 1981	Base de donnees de la collection du DAVFP, 2020 Funk, 1981
<i>A. nephrolepis</i> Maxim.	Россия, 1974	Ширнина, 1979
<i>A. nobilis</i> Lindl.	Норвегия, 2015 Дания, 2016	Talgo, Thomsen, 2017 Talgo, Thomsen, 2017
<i>A. sachalinensis</i> Mast.	Россия, 1974	Ширнина, 1979
<i>A. sibirica</i>	Россия, 1929	Наумов, 1929; гербарий БИН АН России
<i>A. Veitchii</i> Lindl.	Россия, 1974	Ширнина, 1979
<i>A.sp.</i>	Россия, 1974	Ширнина, 1979

Второй вид *Sirodothis populi* Clem. обнаружен в 1975 г. в ботаническом саду ВГУ (Воронеж) на коре усохших ветвей *Pinus flexilis* James и *P. hamata* D. Sosn. [3]. Конидиомы на стромах с расширенным основанием, погруженным в кору, черные, блестящие, одно- или редко многокамерные, различной формы, выступающие одиночно или группами, вначале закрытые при созревании с отверстием на вершине 314 x 271,7–329 x 315 мкм, камеры – 214 x 171–229 мкм. Конидиеносцы септированные, разветвленные у основания, заостренные на вершинах, 50x2,3 мкм. Конидии бесцветные, одноклеточные, в распадающихся цепочках, 2,6-3,5x0,5-1,2 мкм, продолговатые, с закругленными концами (рис. 2).

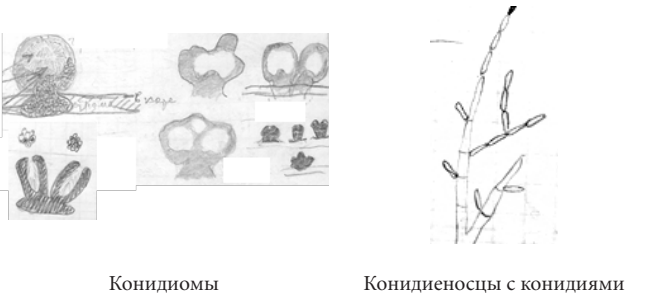


Рис. 2. *Sirodothis populi* Clem. (оригинальный образец автора)

Вид был описан на осине в шт. Колорадо США [7]. В наших образцах его диагностические признаки хорошо соответствуют данному виду, несмотря на то, что он обнаружен на представителе хвойных.

Оба выявленные нами вида колонизируют ослабленные мелкие веточки живых деревьев и ускоряют их усыхание.

Список литературы

- Ширнина Л.В. Редкий представитель рода *Camarogratium* Bub. в СССР // Материалы 5 конф. по низшим растениям Закавказья. – Баку, 1979. – С. 108-109.
- Talgo, Venche and Thomsen, Iben Margrete. *Camarographium abietis* on true fir in Norway and Denmark. 13th International Christmas Tree Research and Extension Conference Hotel Natur – Akureyri – Iceland 4-8 September 2017. Abstracts. Poster Presentations Abstracts in alphabetical order. P. 67
- Ширнина Л.В. Новые данные о редком в СССР роде *Sirodothis* Clem. // Тезисы докладов 7 конф. по спорным растениям Ср. Азии и Казахстана. – Алма-Ата, 1984. – С. 73-74.
- Wilson, M & Anderson, R. B. 1923. Observations on *Camarosporium abietis* n. sp. Transactions of the British Mycological Society 9 (1-4): 144.
- Base de donnees de la collection du DAVFP, 2020 Fungal Diversity (2017) 86:1–594 DOI 10.1007/s13225-017-0386-0/ Notes for genera: Ascomycota.
- Funk A. Parasitic microfungi of western trees. Canadian Forestry Service, Pacific Forest Research Centre, Victoria, BC, Canada. 1981. 190 pp.
- Saccardo Sylloge Fungorum, 1931.– V. XXV.– P. 204.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ДИНАМИКИ РАЗНООБРАЗИЯ
ВЫСОКОШИРОТНОЙ МИКОБИОТЫ РОССИИ¹Змитрович И.В., ²Ширяев А.Г.¹ Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург² Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

Потепление климата и интенсификация хозяйственной деятельности вызывают изменения структуры арктической биоты, в том числе и микобиоты. Например, в тундрах на фоне потепления климата и расширения разнообразия субстратов увеличивают численность грибные паразиты древесных и травянистых растений. Особый интерес представляют паразиты сельскохозяйственных злаковых культур. Нами установлено, что *Typhula incarnata* (гриб вызывающий болезнь «снежная плесень») в Западной Сибири в середине 20 века отмечали не севернее южной тайги, а уже в конце 20 века был отмечен в низовьях поймы р. Обь, но на плакор не выходил. В 2010-е годы этот вид был собран и в зональных местообитаниях. Другой активный патоген злаковых – *T. ishkariensis* – в последние три года регулярно формирует плодовые тела на газонах и в теплицах г. Салехард, хотя в природных сообществах пока не выявлен. В 1990-е годы этот гриб собирали в подтаежной и лесостепной зонах Западной Сибири (в природе и на с/х полях), а в 2000-е годы его выявили на Средней Оби (среднетаежная подзона) в синантропных местообитаниях. Склеротии гриба не редко обнаруживали и на других с/х культурах: свекле, сеянцах хвойных, луковичных культурах. В 2011 г. гриб впервые собрали на лесных лугах в окрестностях Ханты-Мансийска. Теперь гриб по антропогенным местообитаниям распространился до полярного круга (г. Салехард). При сохранении схожих темпов потепления климата в высоких широтах, в ближайшие 3–5 лет, с большой долей вероятности можно ожидать появление *T. ishkariensis* в природных экосистемах низовий р. Оби. Следовательно, два наиболее активных паразита злаковых культур уже готовы к приходу новых с/х культур в связи с расширением зоны растениеводства в Ямало-Ненецком АО. Несомненно, это приведет к существенным экономическим потерям аграриев. В Мурманской области и Финнмарке оба эти вида (*T. incarnata* и *T. ishkariensis*) уже выявлены в природе, и, по нашим данным, их численность выросла в два раза за последние 25 лет.

В Арктике продолжается рост видового богатства и численности синантропных макромицетов. Появляются новые «таежные» виды (*Serpula* spp.), поражающие деревянную инфраструктуру: деревянные дома и фундаменты, заборы, сваи мостов, столбы связи, дрова и т.п. При высокой скорости современного освоения новых месторождений и появления новых населенных пунктов и инфраструктуры в Арктике надо учитывать это, снижая роль деревянных конструкций при новом строительстве. Для многих старых ветшающих зданий велика вероятность, что они при сохраняющихся темпах потепления и роста осадков скоро будут «съедены»

домовыми грибами. Также известно, что многие домовые грибы – это агрессивные агенты легочных патологий: наряду с дерматофагоидным клещем, споры домовых грибов являются одним из основных аллергенных компонентов домашней пыли. К подобным «новым» мощным аллергенам у местного северного населения эволюционно отсутствует иммунная защита.

Наш коллектив уже 20 лет разрабатывает сеть микологического мониторинга на основе данных о видовом богатстве грибов в локалитетах расположенных во всех частях страны. В частности, разработан прототип системы мониторинга наземной микобиоты в субарктической Евразии для прогнозирования изменения климата. При этом все локалитеты расположены рядом с метеостанциями, изучена продуктивность окружающих биоценозов. Например, итоги исследования нашей сети микологического мониторинга свидетельствуют, что в европейской Арктике происходит очевидное движение границ ареалов видов, в том числе дифференцирующих видов, что находит отражение при сопоставлении микogeографических границ имеющихся в конце 20 века и в настоящее время. Также, нами установлено, что для разных групп грибов уровень подобных «движений границ» различен. Очевидно, что актуальные границы и тенденции их изменений для трутовиков (пороидных), которые трофически связаны с древесным субстратом, отличны от тенденций для клавариоидных грибов, развивающихся на древесных, травянистых субстратах и на почве. Перечень древесных растений на Полярном Урале и в Мурмане различен, что определяет различия между региональными комплексами трутовых грибов, многие из которых эволюционно (трофически) связаны с конкретными древесными породами. При этом большая часть видов клавариоидных развивается на общих субстратах для обоих регионов, что ускоряет (упрощает) рост «схожести» видового состава между этими регионами в связи с климатическими изменениями. Наиболее полно наша методика отработана на примере клавариоидных грибов. Так, на Полярном Урале, при росте температуры воздуха на 1 °C линия богатства «40 видов грибов» сдвигается на 120 км к северу. При этом в конкретных локалитетах (каждый площадью 100 км²) видовое богатство грибов возрастает на 30–45%, что в 2–5 раз выше по сравнению с южно- и подтаежными районами. Следовательно, скорость ответа микобиоты на потепление в Арктике существенно выше по сравнению с другими регионами планеты.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 24-24-00271).

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О *THYRONECTRIA CUCURBITULA*, МАЛОИЗУЧЕННОМ МИКРОМИЦЕТЕ НА СОСНЕ В МОСКОВСКОЙ И ЯРОСЛАВСКОЙ ОБЛАСТЯХ

Шишкина А.А., Карпун Н.Н.

Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Thyronectria cucurbitula (Tode) Jaklitsch & Voglmayr – малоизученный дендротрофный сумчатый гриб, заселяющий побеги сосны и вызывающий их отмирание [1]. Среди растений-хозяев указывается главным образом сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), но также известна находка на сосне веймутовой (*Pinus strobus* L.) [1]. Молекулярно-генетическими исследованиями этот вид в настоящее время подтвержден в Европе [1].

В отечественной литературе сведения о *T. cucurbitula* отсутствуют. Однако среди синонимов, указанных для этого вида в базе данных Index Fungorum [2], хорошо известны *Nectria cucurbitula* (Tode) Fr., *Zythiostroma pinastri* (P. Karst.) N. hn. и *Zythia pinastri* P. Karst. Они часто упоминаются на сосне, ели, пихте, лиственнице и других хвойных породах как патогены, приводящие к отмиранию ветвей, усыханию вершины и в редких случаях всего дерева [3; 4; 5; 6; 7; 8]. *N. cucurbitula* описан также как раневой паразит на ели [5; 7] и сапрофит в опаде на отмершей хвое и ветвях [7]. О находках сообщалось в сопредельных с Россией странах: в Украине, Беларуси [9; 7; 8; 10] и Грузии [8]. В России эти виды зарегистрированы в Ленинградской области [8], Республике Карелия [8; 11], Астраханской области [8], Красноярском крае [12], Республике Бурятия [13]. В Московской области *N. cucurbitula* известен как обычный вид на ели [14]. В Ярославской области *Z. pinastri* выявлен на сосне кедровой сибирской (*Pinus sibirica* Du Tour), кедровой корейской (*Pinus koraiensis* Siebold & Zucc.) и Банкса (*Pinus banksiana* Lamb.), произрастающих в экспозициях Переславского дендросада [15].

Диагностическими признаками заболевания являются формирующиеся на поверхности пораженных органов округлые конидиомы от оранжево-красного до коричневого цвета, размером 0,25–0,4 мм в диаметре. Обычно они расположены единично или группами по 3–17 штук. Конидии гриба цилиндрические, одноклеточные, бесцветные, размером 4–6 × 1 мкм [8]. Позднее на поверхности пораженных органов развивается сумчатая стадия возбудителя – плодовые тела (перитеции) шаровидной формы, красноватые или коричневые, 0,2–0,4 мм в диаметре, распределенные равномерно или собранные группами по 3–24 штуки и более. Однако микроскопические признаки сумчатой стадии *N. cucurbitula*, указанные в отечественной литературе, не соответствуют описанию таковых у *T. cucurbitula*. В отличие от *T. cucurbitula*, у которого сумкоспоры нитевидные, бесцветные с 15–39 перегородками, размером 33–75 × 2,3–3,7 мкм [1], у *N. cucurbitula* сумкоспоры указаны как эллипсовидные, бесцветные, со слабой перетяжкой, размером 14–16 × 5–6 мкм [4; 7]. Следовательно, представляет затруднение сопоставление известных наблюдений сумчатой стадии *N. cucurbitula* и *T. cucurbitula*. Следует также отметить, что в зарубежной литературе как раневой паразит на ели вместо *N. cucurbitula* указывается другой вид – *Corinectria fuckeliana* (= *Nectria fuckeliana* C. Booth) [16]. Микроскопические признаки сумчатой стадии этого гриба совпадают с теми, которые описаны в отечественной литературе для *N. cucurbitula*. Вероятно, именно этот вид является раневым паразитом на ели, для которого традиционно употреблялось наименование *N. cucurbitula*.

Таким образом, известные в России находки гриба *N. cucurbitula*, считающегося синонимичным наименованием *T. cucurbitula* [2], недостаточно изучены, во многих случаях для них не приведены микроскопические признаки, не проведена молекулярно-генетическая идентификация. Актуально получение сведений о *T. cucurbitula* для выяснения его распространения в насаждениях и оценки влияния на состояние сосны.

В период с 2013 по 2023 гг. проводили обследования и осуществляли сбор данных о видовом составе патогенных микромицетов сосны и ели в разных типах насаждений (лесные культуры и молодняки, декоративные посадки) в Московской и Ярославской областях. Исследования проводили рекогносцировочным методом с элементами детального по общепринятой методике [17]. Образцы усыхающих ветвей отбирались для идентификации видов дендротрофных микромицетов микроскопическими и генетическими методами на базе лабораторий ФБУ «Рослесозащита».

По результатам проведенных нами исследований были получены новые сведения о распространении *T. cucurbitula* в Московской и Ярославской областях. В Московской области гриб отмечен на сосне обыкновенной (*Pinus sylvestris*) в молодых лесных культурах первого класса возраста, на деревьях лесосеменных плантаций возрастом от 20 до 40 лет, а также на сосновом подросте. Тиронектриевый некроз был выявлен на усохших прошлогодних побегах, почках и хвое (рис. 1). Обнаружено как отдельное развитие *T. cucurbitula*, так и в комплексе с *Gremmeniella abietina* (Lagerb.) M. Morelet, возбудителем побегового рака. Обычно верхнюю часть побега, в т.ч. верхушечные почки и основание хвоинок, заселяет *T. cucurbitula*, а нижнюю часть – *G. abietina*. Идентификация вида *T. cucurbitula* подтверждена методом молекулярно-генетической диагностики.

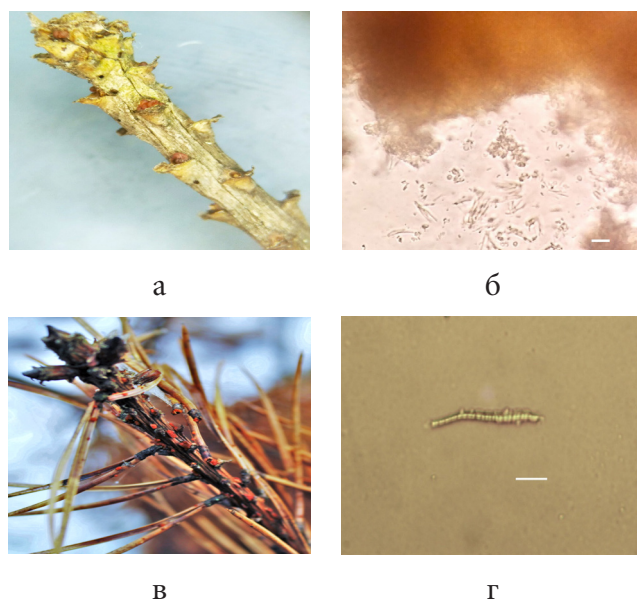


Рис. 1. Тиронектриевый некроз на усохших побегах сосны обыкновенной:

- а – конидиальное спороние;
- б – конидиеносцы с конидиями (цена деления – 10 мкм);
- в – сумчатое спороние;
- г – сумкоспора (цена деления – 10 мкм).

Московская обл., 2020–2023 гг. Ориг В декоративных посадках Московской области тиронектриевый некроз отмечен нами на ветвях сосны кедровой сибирской. Усыхание побегов приводит к изреженности кроны, сильному ослаблению растений, снижению урожая семян, потере декоративности посадок. Все находки *T. cicutritula* на соснах в Московской области являются новыми для региона. Наиболее часто отмечается конидиальная стадия (рис. 1, а, б), и в редких случаях – сумчатая стадия гриба (рис. 1, в, г).

В Ярославской области в экспозициях Переславского дендросада, к ранее известным находкам [15], *T. cicutritula* был обнаружен нами на сосне черной (*Pinus nigra* J.F.Arnold). Развитие гриба на отмирающих ветвях происходило совместно с другими патогенными видами: *G. abietina*, *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko & B. Sutton (диплодиоз) и *Sydowia polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll. (склерофомоз). Комплексное поражение некрозно-раковыми заболеваниями привело к сильному ослаблению растений.

Гриб *T. cicutritula*, по нашим наблюдениям, не имеет такой массовой встречаемости в лесных культурах и декоративных посадках, как *S. sapinea* и *S. polyspora*, его находки редки. Однако отмечены случаи высокого уровня поражения этим видом побегов сосны на отдельных участках молодых культур сосны в Московской области (Орехово-Зуевское лесничество).

Таким образом, находки *T. cicutritula* показывают, что вид способен поражать разные виды сосны как в декоративных посадках, так и в естественных лесных насаждениях, и его ареал может быть значительно шире, чем известно в настоящее время. *T. cicutritula* можно рассматривать как потенциально опасный вид, способный наносить вред растениям и снижать их декоративность. В связи с этим, необходимо проведение постоянных наблюдений в молодняках и декоративных насаждениях сосны с целью своевременного выявления возбудителя и проведения комплекса эффективных защитных мероприятий.

Список литературы

1. Voglmayr H., Polhorský A., Halasů V., Kirisits T. New species, combinations and records of Thyronectria, with a key to species // Mycological Progress. 2022. 21(1). P. 257–278.
2. Index Fungorum [Электронный ресурс]. – 2024. – Режим доступа: <https://indexfungorum.org/Index.htm> – Data access: 29.03.2024.

3. Журавлев И.И., Осмоловский Г.Е. Главнейшие вредители и болезни зеленых насаждений. Л., М.: Из-во Мин-ва ком. хоз-ва РСФСР, 1949. 208 с.
4. Ванин С.И. Лесная фитопатология. М., Л.: Гослесбуиздат, 1955. 416 с.
5. Гартинг Р. Болезни деревьев. М.: МГУЛ, 2005 (репр. 1894). 266 с.
6. Черемесинов Н.А., Негруцкий С.Ф., Лешковцева И.И. Грибы и грибные болезни деревьев и кустарников. М.: Из-во «Лесная промышленность», 1970. 392 с.
7. Шевченко С.В. Лесная фитопатология. Львов: «Вища школа», изд-во при Львов. ун-те, 1978. 320 с.
8. Мельник В.А. Определитель грибов России. Класс Coelomycetes // Вып. 1. Редкие и малоизвестные роды. СПб.: Санкт-Петербургская типография № 1 РАН, 1997. 280 с.
9. Визначник грибів України. Том III. Незавершені гриби. / под ред. Д.К. Зерова. Київ: «Наукова думка», 1971. 696 с.
10. Беломесяцева Д.Б., Шабашова Т.Г. Представители порядка НуротриALES, встречающиеся в хвойных лесах Беларуси // Труды БГТУ. №1. Лесное хозяйство. 2010. № 18. С. 328–330.
11. Федосова А.Г., Тобиас А.В. Микобиота хвои на некоторых островах Керетского архипелага (Белое море) // Вестник СПбГУ. Сер. 3. 2012. Вып. 4. С. 68–74.
12. Татаринцев А.И., Скрипальщикова Л.Н. К вопросу о фитопатологическом состоянии подростка в сосняках зеленой зоны г. Красноярск // Хвойные бореальной зоны. 2011. Т. 29, № 3–4. С. 319–323.
13. Краснопевцева В.М., Краснопевцева А.С. Грибы Байкальского заповедника (хребет Хамар-Дабан, южное Прибайкалье) // Вестник Бурятского государственного университета. Биология, география. 2017. № 3. С. 40–49.
14. Соколова Э.С., Колганихина Г.Б., Галасьева Т.В., Стреленюк Л.П., Семенова М.А. Видовой состав и распространение дендротрофных грибов в разных категориях зеленых насаждений Москвы // Лесной вестник. 2006. № 2(44). С. 98–116.
15. Колганихина Г.Б., Шишкина А.А., Шишкина А.А. Состояние и грибные болезни деревьев и кустарников в экспозициях Переславского дендросада // Лесной вестник. 2011. № 4(80). С. 108–117.
16. Roll-Hansen F., Roll-Hansen Helga. Microflora of sound-looking wood in Picea abies stems // European Journal of Forest Pathology. 1979. Vol. 9, Issue 5. P. 308–316.
17. Воронцов А.И., Мозолевская Е.Г., Соколова Э.С. Технология защиты леса. М.: Экология, 1991. 304 с.

ВИРТУАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЧЕСКАЯ КОЛЛЕКЦИЯ. НОВЫЙ СОВМЕСТНЫЙ ПРОЕКТ МЕЖВЕДОМСТВЕННОГО СУПЕРКОМПЬЮТЕРНОГО ЦЕНТРА РАН И ГОСУДАРСТВЕННОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО МУЗЕЯ ИМ. К.А. ТИМИРЯЗЕВА

Соболевская И.Н.¹, Зубарева О.А.²

¹Межведомственный суперкомпьютерный центр РАН – филиал ФГУ «ФНЦ НИИ системных исследований РАН», Москва

²Государственный биологический музей имени К. А. Тимирязева, Москва.

Цифровые коллекции естественно-научных музеев формируются с целью сохранения, изучения и предоставления широкому кругу пользователей доступа к научным данным, музейным объектам и информации об исследуемых областях науки.

Формирование цифровых коллекций естественно-научных музеев направлено на:

1. Сохранение музейных объектов. Цифровые технологии позволяют создавать и хранить большие массивы, в том числе, текстовых документов, фото-, аудио- и видеоматериалов, 3D-модели и др. цифровые образы музейных объектов.
2. Улучшение доступности разнородной информации. Цифровые коллекции позволяют людям из разных частей мира удаленно изучать исследуемые объекты.

Виртуальные коллекции обеспечивают доступ к редким и уникальным экспонатам, хранящимся в запасниках музеев.

3. Поддержку научных исследований и образования.

4. Привлечение новых аудиторий. Цифровые коллекции позволяют музеям привлечь новые аудитории в лице тех, кто не имеет возможности посетить музей физически.

Виртуальные коллекции могут быть использованы для формирования интерактивных выставок и виртуальных туров. Виртуальные коллекции также могут быть использованы для создания архивов и библиотек.

На цифровой платформе Электронная библиотека «Научное Наследие России» (ЭБ ННР) собраны и доступны для поиска и просмотра разнородные материалы (текстовые, архивные, мультимедийные) связанной с культурным, историческим и научным наследием. Библиотека была создана в рамках проекта «Научное Наследие России», который был запущен в 2005 году. Цифровые коллекции в ЭБ ННР включают материалы по различным научным направлениям (<http://e-heritage.ru/>).

На сегодняшний день в ЭБ ННР содержится более 20 коллекций, содержащих объекты, в том числе, из государственного биологического музея имени К. А. Тимирязева (ГБМТ), государственного геологического музея имени В.И. Вернадского, минералогического музея имени А. Е. Ферсмана РАН и др., а также 3 интерактивные выставки,

представляющие совместные проекты ГБМТ, МСЦ РАН, РГАКФД и др.

Новый совместный проект МСЦ РАН и ГБМТ предполагает формирование Виртуальной микологической коллекции на базе музейных объектов, относящихся к этой теме, хранящихся в ГБМТ. Коллекция будет опубликована на сайте <https://e-heritage.ru/> в открытом доступе.

В фондах Биологического музея предметы микологической тематики, относятся к разным группам хранения (муляжи, влажные препараты, ботанические объекты, графика и т.д.). Начать работу по созданию виртуальной коллекции было решено с муляжей грибов, созданных мастером-муляжистом Анатолием Фёдоровичем Манаевым. Музейная коллекция включает более 270 работ этого автора, поступавших в фонды музея с 1983 по 2005 год. Муляжи выполнены из воска, пенопласта, марли и пластика и размещены на плашках в окружении натурального материала (травы, листья, веток, шишек), воссоздающего природную обстановку, характерную для каждого вида. Все муляжи, выполненные А.Ф. Манаевым отличаются точным воспроизведением внешних признаков изображаемых видов.

В дальнейшем планируется формирование совместной с ГБМТ виртуальной выставки, посвященной микологии, как научному направлению.

ФОРМИРОВАНИЕ МОНИТОРИНГОВОГО СПИСКА ВИДОВ ГРИБОВ РОССИИ: ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП

Светашева Т.Ю.¹, Агеев Д.В.², Бухарова Н.В.³, Волобуев С.В.⁴, Воронина Е.Ю.⁵, Горбунова И.А.⁶, Ерофеева Е.А.⁷, Звягина Е.А.^{8,9}, Иванов А.И.¹⁰, Калинина Л.Б.⁴, Кияшко А.А.⁴, Коткова В.М.⁴, Кочунова Н.А.¹¹, Морозова О.В.⁴, Паламарчук М.А.¹², Переведенцева Л.Г.¹³, Попов Е.С.⁴, Потапов К.О.¹⁴, Ребриев Ю.А.¹⁵, Сазанова Н.А.¹⁶, Саркина И.С.¹⁷, Филиппова Н.В.⁸, Ширияев А.Г.¹⁸, Ширияева О.С.¹⁸

¹Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, Тула
²ООО «Сигнатек», Новосибирск

³Федеральный научный центр Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток

⁴Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

⁵Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

⁶Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск

⁷Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН, Биробиджан

⁸Югорский государственный университет, Ханты-Мансийск

⁹Сургутский государственный университет, Сургут

¹⁰Пензенский государственный аграрный университет, Пенза

¹¹Амурский филиал Ботанического сада-института ДВО РАН, Благовещенск

¹²Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар

¹⁴(Приволжский) федеральный университет, Казань

¹⁵Южный научный центр РАН, Ростов-на-Дону

¹⁶Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, Магадан

¹⁷Никитский ботанический сад - Национальный научный центр РАН, Ялта

¹⁸Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург

В 2023 г издан приказ Минприроды России «Об утверждении Перечня объектов растительного мира, занесенных в Красную книгу Российской Федерации» [1], в который вошло 42 вида грибов. По сравнению с предыдущим изданием (Красная книга..., 2008), которое включало 24 вида, список увеличился на 75 %, однако он все ещё невелик по сравнению с другими группами организмов тома «Растения и грибы» Красной книги РФ (далее КК РФ). Основная причина столь

небольшого объёма кроется не в нехватке редких видов грибов, а прежде всего, в недостатке объективных данных, которые позволяют адекватно оценить степень уязвимости и необходимость охраны, а также предложить конкретные меры по сохранению и улучшению состояния популяций. В ходе подготовки перечня видов грибов для второго издания группой российских микологов было предложено более 80 редких макромицетов, но в процессе отбора и оценки видов на соответствие

критериям КК РФ и МСОП оказалось, что почти в половине случаев имеющаяся информация недостаточна, либо данные, поступающие из разных регионов России противоречивы и неоднородны. Крупным и значимым источником сведений об угрожаемых видах грибов является список МСОП (IUCN, 2024), который фактически служит рекомендательным инструментом по охране живых организмов для всех регионов мира. Однако в значительной части случаев глобальная оценка статуса видов не совпадает с таковой в конкретном регионе в силу природных особенностей или малой степени изученности объектов. Это привело к тому, что лишь 21 из 76 видов макромицетов списка МСОП, отмеченных на территории России, вошли в утвержденный перечень видов готовящегося издания КК РФ.

По итогам проделанной работы по отбору и оценке редкости и уязвимости видов авторами статьи составлен предварительный список видов, популяции которых на территории России нуждаются в мониторинге их состояния в природной среде, уточнении распространения и встречаемости. Большинство видов, вошедших в список, являются предположительно уязвимыми и/или находящимися под угрозой сокращения численности (в том числе виды МСОП, которые в списке сопровождаются знаком статуса EN, VU, NT), но в настоящее время мы не располагаем достаточной информацией, чтобы утвердить их природоохранный статус на федеральном уровне.

Список разделен на две смысловые группы:

ресурсные виды с невысокой численностью (природные популяции), массовый и неконтролируемый сбор которых может привести к угрозе резкого сокращения вида или критического ухудшения качества местообитаний вследствие высокой антропогенной нагрузки:

Boletus aereus Bull.

Fomitopsis officinalis (Vill.) Bondartsev et Singer (EN)

Hericium erinaceus (Bull.) Pers.

Gomphus clavatus (Pers.) Gray

Lentinula edodes (Berk.) Pegler

Sparassis brevipes Krombh.

редкие виды, сведения о распространении которых на территории России, их экологических требованиях, численности, состоянии популяций и местообитаний крайне недостаточны:

Amaurodon cyaneus (Wakef.) Køljalg et K.H. Larss

Antrodiella pallasii Renvall, Johann. & Stenlid

Arrhenia discorosea (Pilát) Zvyagina, A.V. Alexandrova & Bulyonk. (VU)

Ascoclavulina sakaii Y. Otani (NT)

Baeospora myriadohylla (Peck) Singer (VU)

Boletopsis grisea (Peck) Bondartsev & Singer (NT)

Buchwaldoboletus sphaerocephalus (Barla) Watling & T.H. Li

Butyriboletus appendiculatus (Schaeff.) D. Arora & J.L. Frank

Butyriboletus regius (Krombh.) D. Arora & J.L. Frank

Calocybe favrei (R. Haller Aar. & R. Haller Suhr) Bon (EN)

Calonarius barbarorum (Bidaud, Moënné-Locc. & Reumaux) Niskanen & Liimat.

Calonarius cupreorufus (Brandrud) Niskanen et Liimat. (NT)

Calonarius elegantissimus (Rob. Henry) Niskanen et Liimat. (NT)

Calonarius haasii (M.M. Moser) Niskanen & Liimat., (VU)

Calonarius meinhardii (Bon) Niskanen et Liimat. (NT)

Calonarius rufo-olivaceus (Pers.) Niskanen et Liimat.

Camarophyllopsis schulzeri (Bres.) Herink

Catathelasma imperiale (P. Karst.) Singer (NT)

Chromosera cyanophylla (Fr.) Redhead, Ammirati & Norvell

Clavaria zollingeri Lév. (VU)

Cortinarius phrygianus Fr. (VU)

Cortinarius praestans (Cordier) Gillet

Cryptoporus volvatus (Peck) Shear

Cuphophyllus cinerellus (Kühner) Bon

Cuphophyllus colemannianus (A. Bloxam) Bon (VU)

Cuphophyllus lacmus (Schumach.) Bon (VU)

Cystolepiota bucknallii (Berk. & Broome) Singer & Cléménçon

Entoloma excentricum Bres. (NT)

Entoloma griseocyaneum (Fr.) P. Kumm. (VU)

Entoloma porphyrophaeum (Fr.) P. Karst. (VU)

Entoloma prunuloides (Fr.) Quél. (VU)

Entoloma tjallingiorum Noordel.

Erastia ochraceolateritia (Bondartsev) Zmitr.

Flammulina ononidis Arnolds (VU)

Flaviporus citrinellus (Niemelä & Ryvarden) Ginns (EN)

Frantisekia mentschulensis (Pilát ex Pilát) Spirin

Geastrum pouzarii V.J. Stanek

Geoglossum difforme Fr. (NT)

Gloioxanthomyces vitellinus (Fr.) Lodge, Vizzini, Ercole & Boertm. (EN)

Gomphidius borealis O.K. Mill., Aime & Peintne

Gyromitra sphaerospora (Peck) Sacc. (NT)

Haploporus odoratus (Sommerf.) Bondartsev & Singer (NT)

Hydropus atramentosus (Kalchbr.) Kotl. & Pouzar

Hydnellum fuligineoviolaceum (Kalchbr.) E. Larss., K.H. Larss. & Køljalg

Hydnellum gracilipes (P. Karst.) P. Karst. (VU)

Hygrocybe citrinovirens (J.E. Lange) Jul. Schäff. (VU)

Hygrocybe ingrata J.P. Jensen & F.H. Møller (VU)

Hygrocybe nitrata (Pers.) Wünsche (VU)

Hygrocybe ovina (Bull.) Kühner (VU)

Hygrocybe punicea (Fr.) P. Kumm. (VU)

Hygrocybe spadicea (Scop.) P. Karst (VU)

Hygrophorus subviscifer (P. Karst.) Harmaja (VU)

Inonotopsis subiculosa (Peck) Parmasto

Jahnoporus oreinus Spirin, Vlasák & Miettinen

Laccaria maritima (Theodor.) Singer ex Huhtinen (NT)

Lactarius alpinus Peck

Lactarius brunneoviolaceus M.P. Christ.

Lactarius dryadophilus Kühner

Leucopaxillus tricolor (Peck) Kühner

Lignomphalia lignicola (Lj.N. Vassiljeva) Antonín, Borovička, Holec & Kolařík

Lignomyces vetlinianus (Domanski) R.H. Petersen et Zmitrovich

Mycena cyanorhiza Quél.

Oudemansiella melanotricha (Dörfelt) M.M. Moser

Pachykytospora tuberculosa (Fr.) Kotl. & Pouzar

Paraxerula caussii (Maire) R.H. Petersen (VU)

Perenniporia medulla-panis (Jacq.) Donk (NT)

Phaeoclavulina roellinii (Schild) Giachini (VU)

Phallus sibiricus (Lavrov) Yu.A. Rebriev (ранее публиковался в ряде КК как *Dictyophora duplicata*, *Phallus duplicatus*, *Phallus ultraduplicatus*)

Phellorinia herculeana (Pers.) Kreisel

Phlegmacium eucaeruleum (Rob. Henry) Niskanen et Liimat. (NT)

Pluteus fenzlii (Schulzer) Corriol & P.-A. Moreau (VU)

Pseudoboletus parasiticus (Bull.) Šutara
Pseudoplectania melaena (Fr.) Sacc. (NT)
Psiloboletinus lariceti (Singer) Singer
Ramaria rufescens (Schaeff.) Corner (NT)
Rhodotus palmatus (Bull.) Maire (NT)
Rubroboletus rhodoxanthus (Krombh.) Kuan Zhao & Zhu L. Yang (NT)
Sabuloglossum arenarium (Rostr.) Hustad, A.N.Mill., Dentinger & P.F.Cannon
Sarcodon leucopus (Pers.) Maas Geest. & Nannf. (NT)
Sarcodontia setosa (Pers.) Donk [= *Sarcodontia crocea* (Schwein.) Kotl.] (VU)
Stereopsis vitellina (S. Lundell) D.A. Reidv (VU)
Suillus glandulosus (Peck) Singer.
Thaxterogaster pinophilus (Soop) Niskanen et Liimat. (NT)
Tricholoma apium Jul. Schäff. (VU)
Tricholoma acerbum (Bull.) Vent. (VU)
Tulostoma fulvellum Bres.
Xerula pudens (Pers.) Singer

На данном этапе мы исключили из списка редкие виды с неясным таксономическим статусом (например, *Agrocybe elatella* (P. Karst.) Vesterh. NT, *Hygrophorus calophyllus* P. Karst. EN, *Gastrum melanocephalum* (Czern.) V.J. Staněk).

Цель публикации настоящего списка на площадке микологического форума – привлечь внимание специалистов страны к изучению редких макромицетов и сбору необходимой информации по указанным видам.

Сведения, которые необходимо собрать: распространение вида на территории России с указанием координат каждой находки и фотофиксацией плодовых тел; подробные описания местообитаний, субстратов и хозяев/симбионтов; характер, регулярность и обилие плодоношений в каждой точке находки; примерная площадь, на которой развиваются плодовые тела; свидетельства о возможных нарушениях сообщества в местонахождениях вида; способность вида продолжать существование и воспроизводиться при повторяющихся нарушениях среды обитания. Для облегчения сбора по-

левых данных на платформе iNaturalist открыт проект «Мониторинг редких видов грибов России», где будут аккумулироваться фотонаблюдения указанных в списке видов. Для загрузки фотографий требуется только установить на смартфон приложение iNaturalist и подключиться к проекту, в момент фотографирования на смартфоне должна быть включена геолокация.

Кроме сведений, полученных при традиционных полевых изысканиях, приветствуется сбор информации о результатах популяционно-генетических, физиолого-биохимических и культуральных исследований, касающихся скорости роста мицелия и успешности освоения субстрата, времени развития мицелия от момента прорастания споры до начала спороношения “in vitro” и “in situ”, размера особи, численности и структуры популяции, а также результатах исследований микоризных симбиозов конкретных родов и видов.

Предлагаемый список на текущий момент представляет собой результат «первого отборочного тура» и носит предварительный характер. В дальнейшем он может корректироваться, дополняться с учетом поступающих сведений и предложений, которые может прислать (email - tsvetasheva@gmail.com) как специалист - миколог, так и любой человек, заинтересованный в изучении и сохранении редких видов грибов на территории России.

Список литературы

1. Перечень объектов растительного мира, занесенных в Красную книгу Российской Федерации. Приложение к Приказу Минприроды России № 320 от 23.05.2023.
2. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / Гл. редколл.: Ю. П. Трутнев и др.; Сост. Р. В. Камелин и др. — М.: Тов-во научн. изданий КМК, 2008. — 855 с.
3. IUCN 2024. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2023-1. <<https://www.iucnredlist.org>>

О НАХОДКЕ ГРИФОЛЫ КУРЧАВОЙ В НИЖНЕМ НОВГОРОДЕ

Темнухин В.Б.

МАУК «Парк Швейцария», Нижний Новгород

Гриб грифола курчавая *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray (1821), или гриб-баран, или мейтаке, или танцующий гриб, обнаружен в старовозрастной дубраве парка «Швейцария» 14.11.2022 при проведении санитарно-оздоровительных мероприятий в насаждениях. Плодовое тела гриба гриба располагалось на поверхности почвы примерно в 15 см от старого дерева дуба с диаметром ствола на высоте груди 60-67 см, с южной его стороны. Плодовое тело гриба по внешнему виду напоминает завитки бараньей шерсти (овчины). Фотография гриба прилагается.

Само дерево дуба выглядит ослабленным, причём наблюдаются некоторые признаки сильного ослабления. Оно вызвано, скорее всего, механическими повреждениями корневых лап и ствола. В частности, на корневых лапах имеются старые сухобочины, а на стволе-желваки. Дуб с грибом произрастает в одной из наиболее посещаемых частей парка с благоустроенной, хорошо

развитой дорожно-тропиночной сетью (расстояние до ближайшего тротуара около 4 м), в чистом по составу одновозрастном сомкнутом насаждении полнотой не более 0,6, в котором отсутствуют подрост и подлесок любых пород, но имеется самосев дуба и клёна ясенелистного общей численностью до 7 тыс. шт./га.

Исходя из этого, повышенное рекреационное воздействие может быть исключено из числа лимитирующих факторов, влияющих на распространение вида. Ключевым, по-видимому, является наличие ослабленных и сильно ослабленных крупномерных деревьев дуба в среднеполнотных старовозрастных насаждениях.

Гриб-баран съедобен в молодом состоянии, однако сбор его запрещён, так как данный вид считается редким и занесён в Красную книгу Российской Федерации (категория 3) и в Красные книги Орловской и Липецкой областей. Судя по всему, на территории парка «Швейцария» обнаружен впервые.

О находке гриба было своевременно сообщено в Министерство экологии и природных ресурсов Нижегородской области и лицам, ответственным за ведение

Красной книги Нижегородской области. Однако по состоянию на сегодняшний день мер к охране местобитания данного вида не принято.

АФИЛЛОФОРОИДНЫЕ ГРИБЫ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «САМУРСКИЙ» (РЕСПУБЛИКА ДАГЕСТАН, РОССИЯ): НОВЫЕ ДАННЫЕ ПРОДОЛЖАЮЩИХСЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

Волобуев С.В.

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

Территория национального парка «Самурский», организованного в современном правовом статусе в 2019 году, уже на протяжении многих десятилетий привлекает биологов различных специализаций к изучению обитателей уникальных лесных сообществ, расположенных на западном побережье Каспия, в дельте реки Самур. Характерной особенностью лиственных лесов кластера «Дельта Самура» являются лианы, развивающиеся как на открытых участках (*Clematis orientalis*, *Humulus lupulus*, *Lonicera caprifolium*, *Smilax excelsa*), так и под пологом (*Clematis vitalba*, *Hedera pastuchovii*, *Periploca graeca* и др.) грабовых, дубово-грабовых, тополевых лесов, а также гирканские элементы и редкие виды сосудистых растений. Вместе с тем, в течение длительного времени на данной территории неизученной оставалась группа дереворазрушающих грибов, представленная афиллофороидными базидиомицетами.

Первые сведения о 13 широко распространенных видах трутовых и одном виде (*Clavariadelphus ligula*) клавариоидных грибов приводятся в работе А.Ф. Багдасаровой (1965). После этого, на протяжении более чем полувека какие-либо публикации об афиллофороидных грибах Самурского леса отсутствовали. Исследования данной группы базидиомицетов получили новый импульс только в конце второго десятилетия 21 века.

В 2017 году в «Трудах государственного природного заповедника «Дагестанский» были опубликованы в виде аннотированного списка сведения о находках 44 видов трутовых и кортициоидных грибов, собранных по результатам кратковременного маршрутного обследования на территории заказника «Самурский» (Винер, 2017).

С 2019 года на территории кластера «Дельта Самура» национального парка «Самурский» автором начато целенаправленное изучение биоты афиллофороидных грибов. Первые результаты данных исследований позволили выявить 26 новых для Республики Дагестан и Северо-Восточного Кавказа видов грибов (Volobuev, 2020), которые отмечены на валежной древесине основных лесобразующих пород, представленных *Carpinus betulus*, *Alnus glutinosa*, *Quercus robur* subsp. *pedunculiflora*. К числу особо примечательных находок можно отнести виды *Botryobasidium curtisii*, *Junghuhnia fimbriatella* и *Sistotrema resinicystidium*, малоизвестные как на Кавказе, так и в России.

Использование методов полифазной таксономии, в том числе анализ нуклеотидных последовательностей ДНК, при обработке свежесобранного полевого материала 2021–2023 гг. позволило идентифицировать новые для Кавказа и России виды грибов. Так, впервые для Кавказа в лиановом тополельнике обнаружен редкий в Европе и Азии вид трутовых грибов *Fomitopsis hyalina* ($\equiv$ *Antrodia hyalina*) (Volobuev, 2021), ранее известный только по находкам с древесины *Populus tremula*. До настоящего времени выявленное местонахождение вида в Самурском лесу остается единственным на Кавказе.

Впервые для России на территории прикаспийских низменных лесов национального парка «Самурский» зарегистрирован недавно описанный вид трутовых грибов *Sidera tibetica*. В результате проведенного филогенетического анализа на основе метода максимального правдоподобия показано, что новые последовательности ITS ярдНК, полученные для кавказских образцов *S. tibetica*, образуют хорошо поддерживаемую кладу со всеми доступными ITS ярдНК последовательностями *S. tibetica* из белорусских и китайских образцов, включая референсную последовательность из голотипа (Volobuev, 2023).

В 2023 году были проведены исследования альфа-разнообразия афиллофороидных грибов в пределах двух пробных площадей по 1 га каждая: первая – в смешанном широколиственном лесу с лианами, вторая – в лесном сообществе с преобладанием *Carpinus betulus* и *Quercus robur*. Среди 60 видов афиллофороидных грибов, выявленных суммарно на двух гектарных площадках, 14 оказались новыми для национального парка, в том числе 11 видов впервые указываются для Дагестана, а три вида (*Antrodia leucaena*, *Coronicium gemmiferum*, *Steccherinum litschaueri*) приводятся впервые для Кавказа. Наибольшее количество видов ксилотрофных грибов было отмечено на древесине *Populus alba* (21 вид) на первой пробной площади и на древесине *Quercus robur* (16 видов) и *Carpinus betulus* (14 видов) на второй пробной площади. В отношении макроморфологии базидиомицетов кортициоидные грибы преобладали над пороидными и клавариоидными представителями на каждой гектарной площадке (Ismailov et al., 2023).

Наряду с исследованиями по выявлению видового богатства и особенностей экологии афиллофороидных грибов, на территории национального парка «Самурский» проводится мониторинг известных и поиск новых местонахождений охраняемых видов грибов (Volobuev, Shakhova, 2022). В настоящее время здесь зарегистрированы местонахождения *Fistulina hepatica* и *Ganoderma lucidum*, охраняемых в Республике Дагестан на региональном уровне, при этом *G. lucidum* занесен и в общероссийский перечень охраняемых видов.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 23-24-00335).

Список литературы

- Багдасарова А.Ф. Грибы лианового леса дельты реки Самур. Ботаника, физиология растений и растениеводства. Махачкала: Даг. кн. изд., 1965. С. 64–70.
- Винер И.А. Новые находки трутовых и кортициоидных грибов в Дагестане. Труды государственного природного заповедника «Дагестанский». Вып. 13. Махачкала: Алеф, 2017. С. 13–19.
- Volobuev S.V. Aphyllophoroid fungi of the “Samurskiy” national park (Dagestan). Микология и фитопатология. 2020. 54(4): 235–243. <https://doi.org/10.31857/S002636482004011X>
- Volobuev S.V. *Antrodia hyalina* (Polyporales, Basidiomycota), new species to the Caucasus. Ботанический вестник

Северного Кавказа. 2021. 1: 28–34. https://doi.org/10.33580/24092444_2021_1_28

5. Volobuev S.V. *Sidera tibetica* (Hymenochaetales, Basidiomycota), a new species to Russia. Микология и фитопатология. 2023. 57(6): 394–400. <https://doi.org/10.31857/S0026364823060156>

6. Ismailov A.B., Volobuev S.V., Ivanushenko Yu.Yu. Alpha diversity of lichenized and aphylophoroid fungi in two 1ha forest plots

in the Samursky National Park (Republic of Dagestan, Russia). Юр России: экология, развитие. 2023. 18(4): 51–63. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2023-4-51-63>

7. Volobuev S.V., Shakhova N.V. Monitoring of protected fungal species in Samursky national park. Ботанический вестник Северного Кавказа. 2022. 2: 7–13. https://doi.org/10.33580/24092444_2022_2_7

Глава 4

Экология грибов

10.14427/cmr.2024.x.04

ИЗУЧЕНИЕ МИКОБИОТЫ РЕКОНСТРУИРУЕМОГО ЗДАНИЯ

Алейников С.А., Шабашова Т.Г., Кориняк С.И., Беломесяцева Д.Б.
Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси, Минск

Известно, что очаги биологических повреждений строительных и отделочных материалов образуются при долговременной эксплуатации зданий и сооружений из-за протечек кровли, проникновения влаги внутрь помещений, нарастание культурного слоя на выступающих частях зданий, вокруг фундаментов и стен, нарушение гидроизоляции, некачественных водостоков, плохо функционирующей системы вентиляции, отопления и дренажных систем [1, 2]. Поэтому при реконструкции зданий для подбора наиболее эффективных биоцидных средств обработки, необходима микологическая диагностика объекта, поскольку микроскопические грибы, благодаря наличию широкого спектра ферментов, способны развиваться на строительных и отделочных материалах, и в значительной степени ухудшать их эксплуатационные характеристики [2].

Лабораторией микологии Института экспериментальной ботаники НАН Беларуси было проведено несколько микологических обследований биоповреждений строительных конструкций исторического 3-х этажного здания геофизической обсерватории 1934-1936 годов постройки. На момент его обследования в 2019 г. и 2023 г., здание не функционировало и находилось в стадии консервации. Длительное воздействие влаги на здание и перепады температур привели к образованию конденсата внутри, что способствовало активному росту и развитию микроскопических грибов на стенах, потолке, перекрытиях и т.п. Помимо плесневых грибов на первом этаже в фойе на стенах был отмечен рост водорослей, на наружной облицовке здания лишайники рода *Xanthoria*, т.к. в послевоенный период здание ремонтировалось, деревянные части перекрытий и балок были заменены на бетонные, поэтому дереворазрушающие базидиальные грибы, являющиеся основными биодеструкторами старых построек в данном здании отсутствовали.

Для анализа видового состава грибов был проведен отбор образцов (поверхностные соскобы) с перекрытий и со стен несущих конструкций, потолков, полов в помещениях и коридорах с 1 по 3 этаж, включая подвал и фойе, для изучения возможности проникновения грибов внутрь стен, были сделаны отверстия глубиной 30-80 мм и взяты образцы цементной крошки. Выделение грибов из проб образцов на агаризованную питательную среду проводилось в соответствии с общепринятыми стандартными методами [3].

Из образцов взятых из разных мест здания обсерватории было идентифицировано 18 видов микроскопических грибов (таблица): *Acremonium charticola*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus spiculosus*, *Aspergillus sulphureus*, *Chaetomium tenuissimum*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium sporotrichiella*,

Penicillium expansum, *Penicillium variabile*, *Phialophora alba*, *Trichoderma viride*, *Verticillium album*, *Verticillium lateritium*, *Ulocladium atrum*.

Так как большая часть пор в бетоне здания капиллярная, влага от длительного воздействия дождевого стока распространилась по всей конструкции стен, вызвала трещины, расслоение кирпичной кладки и разрушение прочности раствора между ними. Анализ проб из кирпичной кладки, бетона и цемента стен (глубина отбора проб от 30 до 80 мм) показал, что споры грибов 10 видов сохраняют свою жизнеспособность и при благоприятных условиях могут прорасти - *Aspergillus sulphureus* - 30 мм, *Aspergillus fumigatus* - 30 и 70 мм, *Aspergillus parasiticus* - 70 мм, *Aspergillus ustus* - 80 мм, *Chaetomium tenuissimum* - 30 и 80 мм, *Cladosporium herbarum* - 70 мм, *Penicillium expansum* - 70 мм, *Penicillium variabile* - 70 мм, *Phialophora alba* - 70 мм, *Verticillium albo-atrum* - 30 и 50.

Выявленные виды грибов-биодеструкторов являются эвритопными видами с широкой амплитудой выживаемости, как на естественных, так и на искусственных субстратах и принадлежат в группе оппортунистических грибов. В природе они развиваются как сапротрофы, не являющиеся патогенными для человека, но при определенных условиях способных вызвать заболевания человека, особенно с ослабленным иммунитетом. Основной фактор, который делает их потенциально опасными для здоровья людей - способность колонизировать, быстро расти и производить большое количество спор на любых субстратах минимально подходящих для жизнедеятельности.

Анализ структуры комплекса грибов-биодеструкторов показывает, что по видовому разнообразию и степени доминирования в помещениях преобладают грибы дейтеромицеты (*Deuteromycota*), или несовершенные грибы (*Fungi imperfecti*), анаморфной стадии сумчатых грибов, которые продуцируют большое количество спор и могут спровоцировать развитие аллергических реакций даже у здоровых людей, а также значительно ухудшают качество жилья. В помещения попадают вместе с пылью, землей. Важно отметить, что на уровень контаминации зданий микромицетами оказывают влияние климатические особенности местности, в частности температура и влажность, а также тип почвы - главной среды обитания грибов в естественных условиях. Почва является основным фактором загрязнения объектов микромицетами. При высыхании ее верхних слоев, возможность загрязнения воздуха грибами, адсорбированными на пылевых частицах, резко возрастает [4].

Проведенное микологическое обследование показало, что несущие конструкции, стены и потолки данного здания в высокой степени поражены микроскопическими грибами, на стенах помещений также выявлены факторы разрушения штукатурки, засоление и рассло-

ение кирпичной кладки, высокая гигроскопичность бетона внутри помещений и проникновение микроскопических грибов в его толщу на глубину до 80 мм, разрушение металлической арматуры, также способствует возникновению пустот и накоплению влаги, отсутствие нормальной вентиляции приводит к застою воздуха и способствует росту грибов.

Кроме диагностики биодеструкторов, одним из процессов санации служит обработка конструкций биоцидным препаратом и производство отделочных работ с использованием антисептиков. В 2023 г. был начат ремонт здания, штукатурка, гипсокартон, пораженные грибами были удалены, стены и потолки очищены до бетона и все поверхности были обработаны 2-хкратно фунгицидным средством Buotol. Для исследования эффективности проведенной обработки были взяты пробы в виде соскобов с обработанных антисептиком поверхностей. Проведенный анализ показал наличие остаточной грибной флоры на строительных конструкциях здания после проведенной обработки, было выявлено 9 видов грибов: *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus fumigatus*, *Chaetomium tenuissimum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium variable*, *Phialophora alba*, *Trichoderma viride*, *Verticillium albo-atrum*, *Ulocladium atrum* (таблица).

Удаление плесневого налета с пораженных поверхностей стен и потолков, последующая их просушка и обработка фунгицидными препаратами не привели к полному уничтожению грибов-биодеструкторов, на стенах даже после обработки биоцидным средством

сохраняются остаточные количества спор грибов рода *Penicillium* и *Aspergillus*, причем доминирование рода *Aspergillus* меняется на *Penicillium*. Возможно это связано с тем, что данные виды грибов в предыдущем исследовании 2019 года были обнаружены в пробах, взятых на глубине от 30 до 80 мм, поэтому, вероятно, их споры сохранились в трещинах кирпичной кладки. Поэтому для предотвращения возможного рецидива роста грибов-биодеструкторов, необходимо помимо дополнительной обработки поверхностей биоцидом, ввести в используемые штукатурные и отделочные смеси пластификаторы для улучшения их гидрофобных свойств.

Список литературы

1. You S., Li W., Ye T., Hu F., Zheng W. Study on moisture condensation on the interior surface of buildings in high humidity climate / Building and Environment. - 2017. – vol. 125, p.39-48.

2. Gámez E., Bellotti N., Deya C., Cabello M. Mycological studies as a tool to improve the control of building materials biodeterioration / Journal of Building Engineering. – 2020. - vol. 32. DOI: 10.1016/j.job.2020.101738

3. Марфенина О.Е., Кулько А.Б., Иванова А.Е., Согонов М.В. Микроскопические грибы во внешней среде города / Микология и фитопатология. – 2002. –т. 36, вып.4. – с.22-32.

4. Шабашова Т.Г., Беломесяцева Д.Б., Кориняк С.И. Особенности метода отбора образцов при микологической экспертизе помещений. Сб. науч. тр. Ин-т эксп. бот. НАН Беларуси. – Минск, 2016. – Вып. 45: Ботаника (исследования). – С. 202-208.

Табл. 1. Видовой состав грибов-биодеструкторов

№ пп	Вид	2019 год					2023 год				
		Подвал	Фойе	1 этаж	2 этаж	3 этаж	Подвал	Фойе	1 этаж	2 этаж	3 этаж
1	<i>Acremonium charticola</i>		+		+	+					
2	<i>Alternaria alternata</i>		+	+	+	+					
3	<i>Aspergillus carbonarius</i>		+			+	+	+	+	+	+
4	<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	+		+	+	+		+		
5	<i>Aspergillus niger</i>		+			+					
6	<i>Aspergillus parasiticus</i>	+		+							
7	<i>Aspergillus sulphureus</i>	+	+	+	+						
8	<i>Aspergillus ustus</i>		+			+					
9	<i>Chaetomium tenuissimum</i>			+	+	+			+	+	
10	<i>Cladosporium herbarum</i>	+	+	+	+	+					
11	<i>Fusarium heterosporum</i>					+					
12	<i>Penicillium expansum</i>	+		+		+	+	+	+	+	+
13	<i>Penicillium variable</i>		+	+	+		+	+	+	+	+
14	<i>Phialophora alba</i>		+				+				
15	<i>Trichoderma viride</i>		+			+				+	
16	<i>Ulocladium atrum</i>	+	+		+		+		+	+	
17	<i>Verticillium albo-atrum</i>	+			+				+	+	+
18	<i>Verticillium lateritium</i>	+			+	+					

РОЛЬ ПИГМЕНТА МЕЛАНИНА В АДАПТАЦИИ МИКРОМИЦЕТОВ К РАДИАЦИОННОЙ СРЕДЕ УРБОЭКОСИСТЕМЫ

Алиев И.А.

Институт Микробиологии Минобрнауки Азербайджанской Республики, Баку

Аннотация: Представленная работа посвящена изучению роли пигмента меланина в адаптации микромицетов к радиационной среде урбоэкосистемы. Определено, что в почвах, загрязненных радиоактивными веществами активируется защитная функция грибной клетки и появляется темно-черная окраска вследствие синтеза пигмента меланина. Одновременно, в воздушном пространстве в результате ионизирующего действия радиоактивных лучей разной длины волны наблюдается темно-коричневая окраска микромицетов. Установлено, что синтез пигмента меланина находится в прямой зависимости от вида гриба, влияния стрессового фактора и химического состава пигмента. Выяснено, что пигмент меланин играет не только важную роль в самозащите микромицетов от многочисленных стрессовых воздействий, но и считается как индикатор патогенности грибов.

Ключевые слова: урбоэкосистем, загрязненная почва, микромицеты, пигмент меланин, защитная функция, патогенность.

Продукция пигмента живыми организмами, обитающими в природе, в том числе грибами, является важным физиологическим процессом, важную роль играют их синтез, самозащита и ряд других функциональных активностей [7;8;9;10]. Установлено, что микромицеты, столкнувшись с возникающими стрессовыми условиями, включают способность самозащиты, вырабатывают пигмент меланин и темнеют. Поэтому такие грибы еще называют темноцветными. Интересно, что грибы различаются по пигментному составу, и сравнение их устойчивости к радиоактивному излучению показывает, что пигмент меланин более устойчив. Известно, что основной причиной появления пигментного процесса у грибов является самозащита от стресса [1, 2, 4, 6]. Учитывая, что Баку, столица нашей Республики, и расположенный вблизи него город Сумгаит, где расположено множество крупных и мелких промышленных предприятий, в том числе нефтеперерабатывающих, перерабатывающих бытовых отходов, сталелитейной, металлургической, резиновой промышленности и других химических заводов, то появление грибов темной окраски будет неизбежным. В связи с этим целью представленной работы было изучение места и роли темноокрашенных грибов в формировании и организации микокомплекса как в атмосферном воздухе, так и в почвенной среде промышленно развитых городов Баку и Сумгаита, которые подвергаются различным антропогенным воздействиям.

Материал и методы

В качестве объекта исследования были выбраны территории, где расположены нефтегазоперерабатывающие и химические заводы городов Баку и Сумгаита. Пробы почвы, отобранные с загрязненных территорий, были проанализированы масс-спектрофотометрическим методом и на основе других модифицированных методов и подходов, определен тип радиоактивных веществ. Также изучены видовой состав и процессы пигментации темноцветных грибов в составе микокомплекса, обитающего в загрязненных почвах. При этом радиометрическими методами изучалось ионизиру-

ющее действие дыма, выбрасываемого химическими предприятиями, а также изучались функции протектора и пласта в воздушном пространстве [3;5]

Полученные результаты и их обсуждение

Установлено, что в результате воздействия антропогенных факторов, особенно радиации различного происхождения, микромицеты, обитающие в атмосферном слое или слое почвы, претерпевают изменение окраски и приобретают либо темно-черную, либо темно-коричневую окраску. Так, в почве, где были выделены радионуклиды, поселяются ряд представителей микромицетов, грибов-оппортунистов, особенно *Alternaria tenuissima* Will, *Aspergillus niger* Tiegh, *A. nidulans* Winter, *Stachybotrys atra* Corda, *S.chartarum* Hughes, *Stemphyllum botryosum* Wall, которые характеризуются темно-черным цветом. Так как в почвах, загрязненных радиоактивными веществами, за счет воздействия радионуклидов активируется защитная функция грибной клетки и появляется темно-черная окраска вследствие синтеза пигмента меланина.

Наряду с этим, в воздушном пространстве районов расположения нефтеперерабатывающих и химических предприятий атмосферный воздух регулярно содержит радионуклидные частицы пыли, H_2S , CS_2 , NH_3 , SiF_4 , Pb, Cl, Hg и др. В таком воздушном пространстве формирующаяся аэромикобиота, особенно ее представители-оппортунисты, в том числе *Acremonium strictum* Gams, *Alternaria alternata* Keissl, *Cladosporium elatum* Nannf, *C. cladosporioides* de Vries, *C. sphaerospermum* Pens, *Sporotrichum pruinosum* Gilman и др. Они проявляют темно-коричневую окраску в результате ионизирующего действия радиоактивных лучей разной длины волны. Следует отметить, что темно-коричневая окраска указанных микромицетов характеризуется разными оттенками из-за сложной молекулярной структуры синтезируемого пигмента меланина. Установлено, что пигменты, в том числе меланины, образуются преимущественно в мицелии и конидиях микромицетов, а их синтез находится в прямой зависимости от вида гриба, влияния стрессового фактора и типа пигмента.

В то же время грибы, культивируемые в разных питательных средах при слабом облучении, характеризуются разными показателями синтеза пигмента меланина. Для этого использовали питательные среды Чапека, Чапека-Докса и Сабуро. Так, грибы *Aspergillus niger* Tiegh, *A.flavus* Link, *A. ochraceus* Wilh., *A. terreus* Thom, *A. ustus* Bainier, *Alternaria tenuissima* Will, *Cladosporium cladosporioides* de Vries., *Stachybotrys chartarum* Hughes, *Stemphyllum botryosum* Wall продуцируют пигмент меланин соответственно, как в профильтрованном культуральном растворе, так и в биомассе, образующейся в среде (Таблица 1). Установлено, что *A. niger* Tiegh, *C. cladosporioides* de Vries и *A. tenuissima* Wilh. Процесс пигментации грибов как в фильтрованном культуральном растворе, так и в биомассе, *A. flavus* Link, *A. ochraceus* Wilh. и *St. botryosum* Wall только в биомассе, *A. terreus* Thom, *A. ustus* Bainier и *St. chartarum* Hughes регистрируются только в профильтрованном культуральном растворе. Установлено, что большинство представителей рода *Aspergillus* синтезируют пигмент меланин индуктивно за счет ионизирующего воздействия радиоактивного

вещества окружающей среды, а грибы окрашиваются в темно-черный цвет. Также в ходе исследований выяснилось, что грибы, относящиеся к роду *Aspergillus*, характеризуются разными количественными показателями для пигмента меланина в зависимости от вида.

Проведенные клинические исследования показывают, что микромицеты, обитающие в живых организмах, особенно в грибах- оппортунистах, проявляют противомикробную и противогрибковую активность в зависимости от синтезируемых и секретируемых ими пигментов меланина. В то же время при усилении влияния стрессовых факторов значительно повышается уровень вирулентности меланинизированных микромицетов, что наблюдается при снижении самоиммунного статуса или утрате функций самозащиты организма.

При этом установлено, что патогенная активность ослаблена или приближается к нулю при отсутствии пигмента меланина в клетке гриба или в мутантных формах. Таким образом, практически все из изученных 9 штаммов гриба *Aspergillus flavus*, не имеющих пигмента меланина, характеризуются очень слабой вирулентностью.

Табл. 1. Сравнительная характеристика особенностей меланизации микромицетов в различных радиационных средах

№	Виды микромицетов	Меланизированные микромицеты на разных средах		
		Радионуклидная почвенная Среда	Радиационная воздушная среда	Слаборадиационная питательная Среда
1	<i>Acremonium strictum</i> Gams	-	+	-
2	<i>Alternaria alternata</i> Keissl.	-	+	-
3	<i>A.tenuissima</i> Will.	+	-	+
4	<i>Aspergillus flavus</i> Link.	-	-	+
5	<i>A.niger</i> Tiegh.	+	-	+
6	<i>A.nidulans</i> Winter	+	-	-
7	<i>A.ochraceus</i> Wilh.	-	-	+
8	<i>A.terreus</i> Thom.	-	-	+
9	<i>A.ustus</i> Bainier	-	-	+
10	<i>Cladosporium elatum</i> Nannf.	-	+	-
11	<i>C.cladosporioides</i> de Vries	-	+	+
12	<i>C.sphaerospermum</i> Pens.	-	+	-
13	<i>Sporotrichum pruinosum</i> Gilman	-	+	-
14	<i>Stachybotrys atra</i> Corda	+	-	-
15	<i>S.t. chartarum</i> Hughes	+	-	+
16	<i>Stemphyllium botryosum</i> Wall.	+	-	+

Однако большинство штаммов одного и того же гриба, богатых пигментом меланином, обладают острой вирулентностью. В ходе исследований также было установлено, что участки гриба *A. fumigatus*, менее пигментированные меланином, мало устойчивы

к радиации и другим стрессовым факторам, а уровень вирулентности низкий.

Заключение

1. Пигмент меланин, синтезируемый микромицетами, также считается как индикатор патогенности, поскольку увеличение его количества наблюдается с увеличением степени вирулентности.
2. Пигмент меланин, образующийся в грибной клетке, играет чрезвычайно важную роль в самозащите микромицетов от многочисленных стрессовых воздействий, наблюдаемых в окружающей среде.

Список литературы

1. Алиев И.А.Характеристика перемещения составных элементов индигенной и аэрогенной микобиоты в городской среде.// Аграрный научный журнал. Саратов, 2016, №3,с.:6-8.

2. Алиев И.А. Радиоадаптационная особенности аэро-микобиоты в медицинских учреждениях (на примере Республиканского Диагностического Центра)/ Съезд по радиационным исследованиям. Москва (Дубна), 2021, с.:117-118.

3. Алиев И.А.Характеристика перемещения составных элементов индигенной и аэрогенной микобиоты в городской среде.// Аграрный научный журнал. Саратов, 2016, №3,с.:6-8.

4. Гераськин С.А. Концепция биологического действия малых доз ионизирующего излучения на клетки. //Радиационная биология. Радиоэкология.1995,том 35,№5,с.:571-580.

5. Эйзенбад М.Радиоактивность внешней среды. Москва, изд-во «Атомиздат» ,1967,332.

6. Кашкин П.Н. Хохряков М.К., Кашкин А.П. Определи-тель патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов. Москва,1979, изд-во «Медицина» ,270.

7. Butter M.I.,Day A.W., Henson J.M. Pathogenic properties of fungal melanins. // Mycologia , 2001, vol.93, №1, pp.:1-8.

8. Eisenman H.C., Casadevall A. Synthesis and assembly of fungal melanin. // Applied Microbiology and Biotechnology ,2012, vol.93, №3, pp.:931-940.

9. Gessler N.N., Egorova A.S., Belozerskaya T.A.Melanin pigments of fungi under extreme environmental conditions .(Review). //Applied Biochemistry and Microbiology.2014, vol.50, pp.:105-113.

10. Ming YE, Creng Yi, Ying I., Sheng S. Purification, structure and antiradiation activity melanin from Lachnum YM-404. // International journal of biological macromolecules. 2014, vol.63, pp.:170-176.

11. Polak A. Melanin as a virulence factor in pathogenic fungi. // Mycoses, 1990, vol.33, №5, pp.:215-224.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ ГРИБОВ РОДА *ASPERGILLUS* – АГЕНТОВ БИОПОВРЕЖДЕНИЙ

Арашкова А.А.¹, Летвинова В.С.²¹ ГНПО Химический синтез и биотехнологии, Минск² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

Грибы рода *Aspergillus* характеризуются высокой частотой встречаемости и широким видовым разнообразием в очагах плесневого поражения строительных материалов и в пыли помещений различного назначения [1]. Интерес к изучению аспергиллов вызван опасностью представителей данной группы грибов для здоровья людей, особенно лиц с ослабленным иммунитетом или предрасположенностью к аллергическим реакциям. В число наиболее опасных для здоровья видов рода *Aspergillus* входят *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* и другие виды с оппортунистическими свойствами [2]. Согласно 6 изданию руководства «Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories» (2020 г.) грибы рода *Aspergillus* относятся ко 2 уровню биологической опасности (BSL-2). В перечне условно-патогенных микроорганизмов и патогенных биологических агентов, установленном постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь в 2016 г., грибы рода *Aspergillus* как возбудители аспергиллеза относятся к I и II группам риска. В перечне микроорганизмов – возбудителей инфекционных заболеваний человека санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08, действующих в Российской Федерации с 2008 г., представители рода *Aspergillus* относятся к III и IV группам патогенности (опасности).

На основе литературных данных и собственного опыта, накопленного в ходе мониторинга биоповреждений в зданиях и сооружениях, составлены краткие научно-методические рекомендации, отражающие микробиологические и молекулярно-генетические подходы к диагностике грибов рода *Aspergillus* в очагах плесневого поражения. В рекомендациях освещены методы проведения микологических обследований помещений, отбора проб и выделения агентов биоповреждений в культуру, а также представлены составы питательных сред и методы изучения основных экофизиологических свойств и факторов агрессивности плесневых грибов. В рекомендациях приведены последовательности специфичных праймеров и температурно-временные режимы амплификации для идентификации видов грибов рода *Aspergillus* методом ПЦР. Работы по составлению данных рекомендаций выполнялись в рамках задания Государственной программы научных исследований «Биотехнологии-2» на 2021–2025 гг.

Микологическое обследование включает визуальный осмотр помещений на предмет поражения плесневыми грибами, фотофиксацию очевидных или предполагаемых очагов биоповреждений, отбор проб для последующего лабораторного анализа и составления заключения о причинах и мерах борьбы с биоповреждением. Высев проб, отобранных с пораженных строительных материалов стерильными ватными палочками или зонд-тампонами (свабами), осуществляют четырьмя диаметрными штрихами; пробы пыли или соскобы мелких фрагментов материалов ресуспендируют в стерильной воде, а затем высевают каплю смыва, распределяя ее по поверхности агаризованной среды «лучами» из центра чашки Петри в восьми радиальных направлениях с помощью стеклянной палочки [3]. Микологический анализ проб выполняют по следующим критериям: грибы, формирующие по штрихам многочисленные однотип-

ные колонии, являются доминирующими (кодминирующими) агентами биоповреждений, их присутствие указывает на наличие очага плесневого поражения; грибы, представленные единичными колониями, относятся к сопутствующей микобиоте [4].

Для оценки адаптационного потенциала плесневых грибов к факторам внешней среды моделируют различные температурно-влажностные условия и определяют наличие у изолятов ксеро-, психро- и термотолерантных свойств, по которым в том числе можно судить о причинах, спровоцировавших развитие очагов биоповреждений.

Для создания условий пониженной влажности, при которой активность воды (a_w) в субстрате равна 0,85, состав питательной среды модифицируют добавлением 17 % хлорида натрия [5]. Доминирование в пробах ксеротолерантных микромицетов часто свидетельствует о непродолжительном периоде залития помещения, давности развития очага биоповреждения или его подсыхания.

Для определения температурных границ роста изолятов чаще всего используют диапазон от 5 °С до 37 °С: к мезофильным микромицетам относят культуры, оптимум развития которых лежит в области 25–30 °С, к психротолерантным микромицетам – культуры, способные переносить понижение температуры до 5–15 °С, к термотолерантным микромицетам – культуры, устойчивые к повышению температуры до 35–37 °С. Ростовая активность изолятов в широком диапазоне температур свидетельствует об их способности вызывать плесневое поражение материалов при различных температурных режимах, а также в условиях колебания температур. Следует учитывать, что способность микромицетов рода *Aspergillus* преодолевать температурный барьер тела человека является одним из факторов патогенности, в связи с чем контаминация помещений термотолерантными штаммами представляет особую микологическую опасность [6, 7].

Помимо термотолерантности, на оппортунистические свойства микромицетов указывает внеклеточная продукция фосфолипаз – ферментов, позволяющих микроорганизмам разрушать липидный бислой клеточных мембран и осуществлять инвазию в организм хозяина. Для оценки фосфолипазной активности микромицетов используют среду Чапека-Докса без сахарозы с добавлением 8 % яичного желтка и 0,01 % CaCl_2 [8, 9].

Изучение агрессивности и адаптации микромицетов к существованию на антропогенных субстратах включает оценку кислотообразующей (ацидофицирующей) активности, которую удобно проводить на питательной среде с рН-индикатором бромкрезоловым пурпурным. О выделении грибами органических кислот судят по наличию зон желтого окрашивания вокруг колоний [10].

ПЦР-диагностика микромицетов включает выделение ДНК из мицелия чистых культур, постановку реакции амплификации с видоспецифичными праймерами и анализ размера целевых продуктов с помощью электрофореза в агарозном геле. Нуклеотидные последовательности праймеров со ссылками на литературные источники, а также программы ПЦР, подобранные

нами для идентификации видов *A. fumigatus*, *A. niger* и его двойников *A. carbonarius* и *A. tubingensis*, ранее были опубликованы в [11]. Праймеры для детекции видов *A. flavus* и *A. versicolor* приведены в таблице 1:

Таким образом, представленная в научно-методических рекомендациях система диагностики очагов биоповреждений позволяет оценить обсемененность помеще-

ний плесневыми грибами, установить адаптационные возможности доминирующих микромицетов, выявить возможные причины возникновения плесневого поражения, а также способствует расширению применения метода ПЦР для своевременного выявления опасных для здоровья видов грибов рода *Aspergillus*.

Табл. 1. Видоспецифичные праймеры для идентификации микромицетов *A. flavus* и *A. versicolor* методом ПЦР

Праймер	Последовательность праймера	GC, %	T _{отж.} [*]	Размер продукта	Ссылка
<i>Aspergillus flavus</i>					
A.flav-For	5'-cgagtgtagggttcctagcga-3'	57	55 °C	89 п.н.	Walsh T.J. et al., 2011 [12]
A.flav-Rev	5'-ccggcggccatgaat-3'	67			
<i>Aspergillus versicolor</i>					
Aversi_ITS_f1	5'-ctgagagtgatgcagctctgagctcg-3'	52	60 °C	96 п.н.	Libert et al., 2015 [13]
Aversi_ITS_r	5'-agttcgtctgcgttcttcac-3'	50			

^{*}T_{отж.} – указаны оптимальные температуры отжига праймеров, подобранные экспериментально
Оптимизированная программа ПЦР для праймеров A.flav-For/A.flav-Rev: 95°C – 3 мин (1 цикл); 95°C – 30 сек, 55°C – 30 сек, 72°C – 25 сек (30 циклов); 72°C – 7 мин (1 цикл); для праймеров Aversi_ITS_f1/Aversi_ITS_r: 95°C – 3 мин (1 цикл); 95°C – 30 сек, 60°C – 30 сек, 72°C – 50 сек (30 циклов); 72°C – 4 мин (1 цикл).

Список литературы

1. Арашкова А.А., Летвинова В.С., Тригубович А.М. Встречаемость грибов рода *Aspergillus* среди микромицетов – агентов биоповреждений материалов и контаминантов пыли. Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: мат. XIII Междунар. науч. конф., Минск, 6–9 июня 2023 г.: Нац. акад. наук Беларуси; редкол.: А.А. Шепшелев (пред.) и [др.]. – Минск, 2023. – С. 29–30.

2. Кулько А.Б., Древаль П.А., Воробьев А.А., Трусов В.Н. Лабораторная диагностика бронхолегочного аспергиллеза у больных туберкулезом с полостными образованиями в легких. Проблемы медицинской микологии. – 2008. – Т. 10, № 4. – С. 25–28.

3. Гончарова И.А., Тригубович А.М., Арашкова А.А., Гигиняк Ю.Г., Мямин В.Е. Микологический анализ пылевидных налетов внутри строений в Антарктиде. Природная среда Антарктики: междисциплинарные подходы к изучению: сб. мат. IV Междунар. науч.-пр. конф., Домжерицы, 21–23 сентября 2022 г. – Минск: БГТУ, 2022. – С. 86–89.

4. Арашкова А.А., Гончарова И.А., Мицкевич А.Г., Костеневич А.А., Шарич Т.В. Грибы рода *Aspergillus* в очагах плесневого поражения жилых и общественных помещений. Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. – № 3. – Минск: Белнаука, 2016. – С. 13–16.

5. Ребрикова, Н.Л., Понизовская В.Б. Экстремально ксерофильные грибы, обнаруженные в музейных фондах. Современная микология в России. – 2015. – Т. 4. – С. 298–300.

6. Богомоллова Е.В., Кирцидели И.Ю., Миненко Е.А. Потенциально опасные микромицеты жилых помещений. Микология и фитопатология. – 2009. – Т. 43., Вып. 6. – С. 506–513.

7. Earle K., Valero C., Conn D.P. et al. Pathogenicity and virulence of *Aspergillus fumigatus*. Virulence. – 2023. – Vol. 14, № 1. – DOI: 10.1080/21505594.2023.2172264.

8. Кузикова И.Л., Медведева Н.Г., Сухаревич В.И. Влияние фунгицидов и поверхностно-активных веществ на фосфолипазную активность грибов – агентов биоповреждений. Микология и фитопатология. – 2010. – Т. 44, Вып. 5. – С. 441–447.

9. Арашкова А.А., Летвинова В.С. Оценка потенциальной патогенности штаммов *Aspergillus flavus*, выделенных из очагов биоповреждений. Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. тр. / Ин-т микробиологии НАН Беларуси; редкол.: Э.И. Коломиец [и др.]. – Минск: «Беларуская навука», 2021. – Т. 13. – С. 254–266.

10. Баринаева К.В., Власов Д.Ю., Щипарев С.М., Зеленская М.С., Русаков А.В., Франк-Каменецкая О.В. Органические кислоты микромицетов, изолированных с каменных субстратов. Микология и фитопатология. – 2010. – Т. 44., Вып. 2. – С. 137–142.

11. Арашкова А.А., Летвинова В.С. Применение ПЦР-анализа для идентификации медицински значимых видов грибов рода *Aspergillus*. Успехи медицинской микологии: Успехи медицинской микологии, 2023; 25: 382–385.

12. Walsh T.J., Wissel M.C., Grantham K.J. et al. Molecular detection and species-specific identification of medically important *Aspergillus* species by real-time PCR in experimental invasive pulmonary aspergillosis. J. of Clinical Microbiol. – 2011. – Vol. 49, № 12. – P. 4150–4157.

13. Libert X., Chasseur C., Bladt S. et al. Development and performance assessment of a qualitative SYBR green real-time PCR assay for the detection of *Aspergillus versicolor* in indoor air. Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2015. – Vol. 99, № 17. – P. 7267–7282.

АНАЛИЗ БИОПЛЕНКИ МИКРОМИЦЕТОВ НА ПОВЕРХНОСТИ СТАЛИ ПРИ ОЦЕНКЕ БИОКОРРОЗИОННОЙ АГРЕССИВНОСТИ

Чеснокова М. Г.^{1,2}, Шалай В.В.², Миронов А. Ю.^{3,4}

¹ Омский государственный медицинский университет

² Омский государственный технический университет

³Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора

⁴ ФНКИЦ специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА, Москва

Актуальность. Микроорганизмы способны формировать биопленки в естественных природных условиях на биотических и абиотических поверхностях, в том числе участвовать в развитии биообрастания, биодеструкции. Данное свойство представляет собой ведущую стратегию выживания в окружающей среде [1,2]. Биопленки могут состоять из бактерий одного или нескольких видов. Биологическая коррозия представляет

собой многокомпонентный процесс, вызывающий повреждение нефтепровода, приводящий к серьезным последствиям [3]. Коррозия с микробным участием имеет преимущественный местный или локальный характер разрушения отдельных участков поверхности металла. Для установления причин коррозионного разрушения повреждений оценивают результаты обследования коррозионной агрессивности грунтов, в том числе микро-

биологической. При биокоррозии происходят этапы микробной адгезии на поверхности металла, колонизации с формированием микробной биопленки и дальнейшим развитием язвенной (точечной) коррозии [4]. В развитии коррозионного процесса, обусловленного микологическим фактором можно выделить основные факторы: создание агрессивной среды при накоплении продуктов метаболизма - кислот, щелочей, сульфидов и участие в электрохимических реакциях на коррозионной поверхности [5]. Микромицеты способны стимулировать развитие коррозионного процесса, при этом образующиеся продукты коррозии обуславливают повреждение металлических структур грибами.

Цель – провести анализ биопленки микромицетов почвогрунта трассы нефтепровода при проведении сканирующей электронной микроскопии.

Материалы и методы исследований. Для изучения биокоррозионной активности почвенных образцов определяли количественное содержание тионовых и сульфатредуцирующих бактерий, общую концентрацию серы, железа, величину удельного электросопротивления почвогрунта подземного трубопровода. Микологический анализ проводили с идентификацией до рода и установлением количественной характеристикой в lg КОЕ (колониеобразующих единиц) в 1 грамме почвогрунта. Выделяли культуры микромицета из агрессивных проб. В экспериментальной части работы культуры инкубировали с образцами стали в жидкой питательной среде Чапека с последующей фиксацией.

Биопленку на поверхности образцов стали исследовали с помощью растрового электронного микроскопа JEOL JCM-5700 с энергодисперсионным спектрометром для качественного и количественного элементного анализа.

Результаты исследований. В результате проведения микробиологических исследований почвогрунта на трассах нефтепровода установлено содержание тионовых и сульфатредуцирующих бактерий. Микологический анализ образцов почвогрунта показал присутствие микромицетов, принадлежащих к роду *Penicillium* в средней концентрации lg $5,2 \times 10^4$ КОЕ в 1 грамме почвы. Культуры микромицетов выделяли в агрессивных пробах. При проведении сканирующей электронной микроскопии получены микрофотографии биопленки микромицетов рода *Penicillium* на поверхности образца стали, демонстрирующие сформированные микротрещины на поверхности образцов, отмечаются слияние групповых трещин в очаге разрушений. Характеристика сформированной микроструктуры биопленки поверхности образца позволила установить неровную поверхность биопленки с кратерообразными углублениями и выступами различной глубины и толщины. Рис. 1 демонстрирует

многоярусность формирования грибной биопленки, которая покрывает плотными прерывистыми слоями поверхность образца.

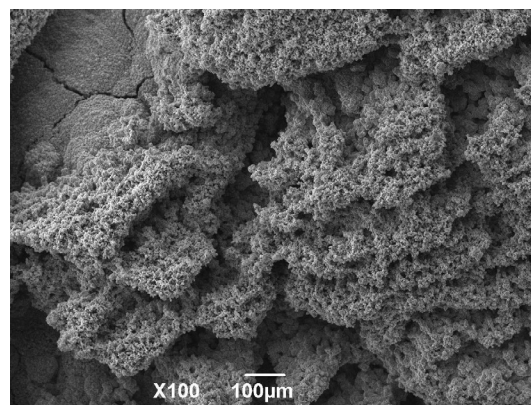


Рис. 1. Биопленка микромицета на поверхности образца стали

Выводы. Результаты оценки биокоррозионной агрессивности почвогрунта трубопровода с проведением микологического анализа и сканирующей электронной микроскопии биопленки коррозионно-активных штаммов микромицетов показал особенности колонизации грибов на поверхности металла и отражают характеристику микрорельефа микотической биопленки.

Список литературы

1. Tilburg E. Bernardes, Lewenza S., Reckseidler-Zenteno S. Current research approaches to target biofilm infections // J. Postdoc. Res. – 2015. – Vol. 3, № 6. – P. 36–49.
2. Hausler R. H., Martin T. G. Development of a corrosion inhibition model for oil and gas production based on laboratory and field measurements // 9th European Symposium on Corrosion Inhibitors. Ferrara, 2000. Vol. I. P. 941–975.
3. Chesnokova M.G., Shalay V.V., Kraus Yu.A., Cherkashina N.V., Mironov A.Yu. Analysis of corrosion defects on oil pipeline surface using scanning electron microscopy and soil thionic and sulfate-reducing bacteria quantification // Procedia engineering. – 2016. – № 152. – P. 247–250.
4. Chesnokova M.G., Shalay V.V., Mironov A.Yu., Rogachev E.A. Aspects of studying the mycobiota biofilm of the oil pipeline soil ecosystem during scanning electron microscopy В сборнике: Oil and Gas Engineering. Melville, 2023. С. 050004.
5. Chesnokova M.G., Shalay V.V., Mulkeev E.N., Polonyankin D.A., Mironov A.Yu. Application of scanning electron microscopy of biofilm in testing corrosion activity at the petrochemical enterprise AO "Omsky Kauchuk" В сборнике: Oil and Gas Engineering. Melville, 2023. С. 070004.

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ МИКОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ОЦЕНКЕ БИОКОРРОЗИОННОЙ АГРЕССИВНОСТИ ПОЧВОГРУНТОВ НЕФТЕПРОВОДА

Чеснокова М. Г.^{1,2}, Шалай В.В.², Миронов А. Ю.^{3,4}

¹ Омский государственный медицинский университет, Омск

² Омский государственный технический университет

³ Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

⁴ ФНКИЦ специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА, Москва

Актуальность. Коррозия приводит к выходу из строя нефтепроводов, сокращает время оборота оборудования и вызывает дополнительные потери. Подземные металлические трубопроводы, кабели и другие сооружения являются одной из самых капиталоемких отраслей

экономики [1,2]. Наибольшее влияние на условия эксплуатации и срок службы подземных металлических сооружений оказывает коррозионная и биокоррозионная агрессивность окружающей среды [3-5]. Коррозионный процесс обусловлен воздействием ряда факторов, каж-

дый из которых и сочетание их может в сократить срок службы стальных подземных сооружений и привести к необходимости преждевременной перекладки не уставших трубопроводов.

Частота возникновения коррозионных повреждений защитных покрытий подземных трубопроводов коррелирует с величиной потенциальной микробной коррозионной активности грунтов [6,7]. Исследования авторов свидетельствуют о том, что бактерии, так как они быстро размножаются и приспосабливаются к условиям окружающей среды, принимают активное участие в процессах разрушения металла и изоляционного покрытия [8]. Формируются бактериальные популяции, составляющие биоплёнки, которые являются оптимальной формой существования микроорганизмов в природе с благоприятными условиями для роста и развития [9,10]. При проведении оценки биокоррозионной активности почвогрунта подземных трубопроводов следует учитывать помимо выраженного фактора микробиоты почвенной экосистемы и микологический фактор, определяющий выявление доминирующих представителей микромицетов почвогрунта нефтепровода.

Цель – проведение микологического исследования при оценке биокоррозионной агрессивности почвогрунта трассы нефтепровода.

Материалы и методы исследований. Отбор проб грунта во время шурфовки трубопровода проводили в соответствии со схемой. Для изучения биокоррозионной активности почвенных образцов определяли количественное содержание тионовых и сульфатредуцирующих бактерий, общую концентрацию серы, железа, величину удельного электросопротивления почвогрунта подземного трубопровода. Устанавливали критерий биокоррозионной активности грунта, который определяли по суммарному эффекту действия различных факторов коррозии. Для проведения микробиологических исследований отбирали пробы почвогрунта, готовили почвенную суспензию для установления количественной характеристики сульфатредуцирующих и тионовых бактерий. Микологическое исследование проводили на плотной питательной среде Чапека. Исследование культуральных свойств микромицетов проводили с учетом характера роста на плотной питательной среде, пигментообразования, типа филаментации. Количественную характеристику выявленных микроорганизмов выражали через десятичный логарифм величины выросших колоний (lg КОЕ/г). Биометрический анализ осуществляли с использованием пакетов STATISTICA-6, БИО-СТАТИСТИКА, возможностей программы Microsoft Excel. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости p принимался равным 0,05. При этом значения p могли ранжироваться по 3 уровням достигнутых статистически значимых различий: $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$.

Результаты исследований.

Анализ биокоррозионной активности почвогрунта показал, что в соответствии с установленным критерием отмечали присутствие умеренно-агрессивных, слабоагрессивных, потенциально агрессивных проб почвогрунта. Умеренно-агрессивные пробы определяли в 56,9%, слабоагрессивные - 38,21%, и потенциально

агрессивные - 4,88% случаев. Бактериологический анализ образцов почвогрунта установил идентификацию тионовых и сульфатредуцирующих бактерий. В результате проведения микологического исследования образцов почвогрунта установлено присутствие микромицетов, принадлежащих преимущественно к родам *Penicillium* и *Aspergillus* в средней концентрации, соответственно, $5,72 \pm 0,5$ КОЕ и $4,37 \pm 0,17$ КОЕ в 1 грамме почвы.

Выводы.

Оценка биокоррозионной активности проб почвогрунта показала присутствие умеренно-агрессивных, слабоагрессивных, потенциально агрессивных проб почвогрунта.

Установлено выявление низкого уровня проб с потенциальной агрессивностью, преобладали пробы с умеренной агрессивностью, а также пробы со слабой агрессивностью почвогрунта.

Проведенные исследования показывают необходимость проведения микологического изучения почвогрунтов нефтепровода при оценке биокоррозионной агрессивности. Установлено присутствие микромицетов, принадлежащих преимущественно к родам *Penicillium* и *Aspergillus*.

Изучен комплекс коррозионно-активных микроорганизмов и почвенных микромицетов, сформированный на трассах нефтепровода, полученные данные имеют практическое значение при оценке степени коррозионной опасности участков.

Список литературы

1. Tilburg Bernardes E., Lewenza S., Reckseidler-Zenteno S. Current research approaches to target biofilm infections . J. Postdoc. Res. – 2015. – Vol. 3, № 6. – P. 36–49.
2. Chesnokova M.G., Shalay V.V., Kraus Yu.A., Cherkashina N.V., Mironov A.Yu. Analysis of corrosion defects on oil pipeline surface using scanning electron microscopy and soil thionic and sulfate-reducing bacteria quantification . Procedia engineering. – 2016. – № 152. – P. 247–250.
3. Назарова А.А., Таныгина Е.Д. Влияние химического и гранулометрического состава различных типов почв на скорость почвенной коррозии стали 3 . Апробация. - 2016. - №3 (42) . - С. 14–17.
4. Zhao J.; Meng, X.; Ren, X.; Li, S.; Zhang, F.; Yang, X.; Xu, J.; Yuan, Y. Review on Soil Corrosion and Protection of Grounding Grids. Materials 2024, 17, 507.
5. Карелина А.А. Об основных факторах, определяющих интенсивность почвенной коррозии металлов . Наука в современном мире: вопросы теории и практики. - 2020. - С. 24–34.
6. Чеснокова М.Г., Шалай В.В., Краус Ю.А., Миронов А.Ю. Биокоррозионная активность почвогрунта на трассах нефтепровода Краснодарского края. Нефтяное хозяйство. – 2016. – №5. – С. 102–105.
7. Chesnokova M.G., Shalay V.V., Kraus Yu. A., Mironov A.Yu. Assessment of soil biocorrosion severeness on the pipeline locations . Procedia Engineering. – 2015. – Т. 113. – С. 57–61.
8. Chesnokova M.G., Shalay V.V., Kriga A.S. Biocorrosive activity analysis of the oil pipeline soil in the Khanty-Mansiysk autonomous region of Ugra and the Krasnodar territory of the Russian Federation . Aip conference proceedings. – 2017. – P. 020019.
9. Chesnokova M.G., Shalay V.V. An actuality of soil micromyceta community studies for soil biocorrosive activity evaluation on the oil pipeline routes В сборнике: AIP Conference Proceedings. Сер. "Oil and Gas Engineering, OGE 2018" 2018. С. 020006.
10. Chesnokova M.G., Shalay V.V., Kriga A.S. The relevance of studying soil biocorrosive activity in establishing an integrated action criterion combined effect of corrosion factors В сборнике: Oil and Gas Engineering (OGE-2016) Omsk State Technical University, Russian Federation, 25–30 April 2016 (Supported by PJSC Gazprom Neft). Сер. "Procedia Engineering" 2016. С. 420–422.

СПОСОБЫ ЗАЩИТЫ МАТЕРИАЛОВ ОТ РАЗВИТИЯ ГРИБОВ

Дешева Е.А.¹, Тверской В.А.²¹ ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва² МИРЭА-Российский технологический университет, Москва

Многолетние сроки эксплуатации орбитальных космических станций выдвинули на первый план экологические проблемы, среди которых ведущее место принадлежит микробиологическому фактору.

Об этом убедительно свидетельствуют опыт эксплуатации орбитальных комплексов «Салют», «Мир» и Международной космической станции (МКС) и результаты выполненных на них микробиологических исследований.

Микроорганизмы, особенно плесневые грибы, в результате своей жизнедеятельности способны вызывать биопомехи в работе различной аппаратуры, повреждать различные конструкционные материалы, в том числе синтетические полимеры, вызывать или провоцировать коррозию металлов. В процессе производства, хранения и транспортировки, а также в условиях эксплуатации материалы, изделия и приборы легко заражаются микроорганизмами. Попадая на различные материалы (например, полимеры), отдельные виды микроорганизмов, быстро адаптируются к ним и начинают свою жизнедеятельность. В результате этого в герметизированном объекте появляется специфический запах, появляются следы биообрастания материалов, а иногда последствия их развития проявляются в виде изменения цвета материалов, снижение эксплуатационных характеристик.

Опыт эксплуатации орбитального комплекса «Мир» и МКС дает основания рассматривать биоповреждения (биодеструкция полимерных материалов, биокоррозия металлов, формирование биопленок, возникновение биопомех) в качестве основного, наиболее значимого и постоянно действующего фактора риска, обусловленного жизнедеятельностью микроорганизмов в кабинах космических объектов. Взаимодействие микроорганизмов с материалами начинается с фаз адсорбции и адгезии клеток, спор на поверхности материала, протекает на границе раздела фаз газ-твердое тело, жидкость-твердое тело, и результаты этого взаимодействия определяются агрессивностью биоповреждающих агентов, стойкостью объектов агрессии и характеристиками среды, в которой оно осуществляется.

Важнейшим фактором, инициирующим рост грибного компонента на поверхностях материалов в условиях космического объекта, является конденсат атмосферной влаги, формирующийся в обитаемых гермокабинах, содержащий основные химические органические и неорганические компоненты, необходимые для развития грибов.

В модельных экспериментах установлено, что наличие конденсата атмосферной влаги обитаемых гермокабин (использовался соответствующий имитатор) достаточно для инициации и поддержания роста штаммов грибов на поверхностях, выполненных из различных материалов, используемых в космических аппаратах.

Так, при моделировании взаимодействия «полетных» штаммов грибов с конструкционными материалами в имитационном стенде было установлено, что микромицеты активно развивались на разных марках резин, ти-

тане, изоляционной ленте и алюминии. Рост грибов на алюминии приводил к дефектам материала – образованию питтинговой коррозии. На характер коррозионных повреждений алюминия влияет состав грибной ассоциации, развивающейся на поверхности металла.

Микробиологическая коррозия металлов может протекать самостоятельно, а также сопровождать электрохимическую и другие виды коррозии. Прежде всего, коррозию металлов могут вызывать экзометаболиты микроорганизмов минеральные и органические кислоты, основания, ферменты и др. Они создают коррозионно-активную среду, в которой в присутствии воды коррозия протекает по обычным законам электрохимии.

Вырастая на загрязненных поверхностях, мицелий грибов способен в дальнейшем удерживать влагу даже при снижении относительной влажности воздуха ниже 60%. Местное повышение влажности в присутствии мицелия создает дополнительные благоприятные условия для развития коррозии.

Образование мицелия на поверхностях электрических контактов приборов способно вызывать нарушение их работы вследствие замыкания электрической цепи или ее размыкания из-за налета продуктов коррозии на поверхностях.

В процессе длительной эксплуатации орбитальных станций неизбежны такие колебания температурно-влажностного режима, при которых температура на ряде поверхностей конструкции и оборудования приближается к точке росы, что способствует развитию в ней колоний грибов – микромицетов.

Негативное влияние этих процессов может проявляться по следующим направлениям:

- биодеструкция и биodeградация неметаллических материалов, приводящая к ухудшению или даже утрате их эксплуатационных свойств;

- биопомехи в электронных микросхемах, в частности, в зонах с повышенным уровнем электромагнитных полей;

- биокоррозия металлов, вызываемая продуктами метаболизма грибных колоний.

Для снижения микробиологических рисков ГНЦ РФ-ИМБП РАН выполняется комплекс научно-исследовательских работ, которые частично уже реализованы при создании российских модулей МКС, а частично находятся на различных стадиях лабораторных исследований.

Это, прежде всего, экспериментальная оценка устойчивости конструкционных материалов к микробиологическим повреждениям.

Следующим шагом являются разработка и внедрение предупредительных мероприятий, препятствующих заносу микробной флоры в среду обитания станций, включающих в себя соблюдение биологической чистоты на стадии подготовки изделий, в том числе дезинфекцию внутренних объемов составных элементов орбитальных станций и доставленных грузов, а также использование физических методов для этих целей.

Для предотвращения и купирования факторов биориска в ходе полета, помимо штатных средств санитарно-гигиенического обеспечения (санитарной уборки) используются дезинфектанты пролонгированного действия, обладающие фунгицидным эффектом, ведется поиск новых эффективных биоцидов, проводится очистка воздушной среды от микроорганизмов.

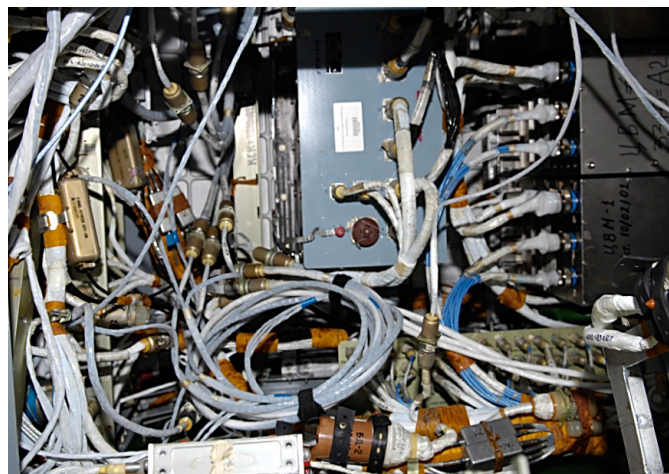
Тем не менее, такие факторы, как невозможность доступа к ряду систем и агрегатов в процессе их эксплуатации, дезинфекция принятыми методами только наружных поверхностей доставляемых грузов препятствует кардинальному решению проблемы микробиологического риска. В связи с этим, актуальными являются следующие задачи:

- разработка технологий получения неметаллических материалов повышенной биостойкости за счет их поверхностной модификации;

- создание полимерных композиций с биоцидами для защиты металлов от биокоррозии.

В настоящее время совместно с МИРЭА РТУ разрабатываются пленочные полимерные покрытия, обладающие антимикробными и антифунгальными свойствами. Эти покрытия создаются на основе четвертичных

аммониевых соединений и полигуанидинов. Апробация их свойств проводилась как по ГОСТ 9.049, так и в условиях влажного тропического климата.



В проведенных исследованиях показана 100% эффективность пленочных покрытий, изготовленных на основе биоцида – полигуанидина для полимерных материалов в этих испытаниях.

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА МИКОБИОТЫ ВОЗДУХА НЕКОТОРЫХ АПТЕК Г. ЕРЕВАНА

Элоян И.М., Матевосян Р.Э., Маркарян Л.В., Нанагюлян С.Г.
Ереванский государственный университет, Армения

Микроскопические грибы являются одним из важнейших компонентов любого биоценоза. Они обитают на различных субстратах окружающей среды, проявляя значительную полиморфность, и выступают в качестве индикаторов её состояния. Микромицеты в процессе своей жизнедеятельности способны накапливать микотоксины. В настоящее время известно около 400 микотоксинов, большинство из которых представляют опасность для здоровья человека [1].

Микромицеты считаются одной из наиболее широко распространенных и многочисленных групп биологических загрязнителей воздуха. Концентрация и видовой состав микроорганизмов, присутствующих в воздухе, постоянно меняются в зависимости от географического положения, времени года, климата (температура, влажность), а также сельской или городской местности [2]. Повышенная влажность способствует прорастанию спор и колонизации влажных поверхностей стен, сантехники, мебели, вентиляционных систем и, как следствие, распространению спор через воздух. Например, споры *Aspergillus fumigatus* наблюдаются при сносе старых зданий или отказах систем вентиляции в зданиях различного назначения [3].

В настоящее время, в условиях современной городской среды, когда человек большую часть времени находится в закрытом помещении, наиболее остра проблема микогенной контаминации воздуха. Источниками могут быть не только загрязненный спорами грибов атмосферный воздух, включая системы вентиляции и кондиционирования, а также очаги грибковой биодеструкции, обнаруженные в помещениях [4; 5].

Целью данного исследования является изучение сезонной динамики микогенной контаминации и видового состава микобиоты некоторых аптек города Еревана. Микологический анализ воздуха проводился с помощью пробоотборного устройства ПУ-1Б, констатирующего количество колониеобразующих единиц (КОЕ/м³) в 1 м³ воздуха. По нормативам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) они не должны превышать 500 КОЕ/м³ [1]. Культуры высевались на питательных средах Чапек-агар и сусло-агар. Постановка опытов, а также выделение и определение микроскопических почвенных грибов проводились в научно-исследовательской лаборатории ботаники и микологии биологического факультета ЕГУ.

В результате микологических исследований выделены 31 вид микромицетов, относящихся к 8 родам, 7 семействам, 6 порядкам, 4 классам и 2 подотделам, которые входят в отделы Mucoromycota и Ascomycota (табл. 1). Названия видов грибов приводятся по номенклатуре базы данных Mucobank [6].

В результате анализа сезонной динамики установлено, что во всех образцах воздуха аптек были обнаружены мицелиальные грибы. Типичными для комплекса микромицетов в воздухе аптек были грибы родов *Aspergillus* (12) и *Penicillium* (7). Остальные виды представлены меньшим числом видов (1-3). Колебания численности представителей этих родов носили сезонный характер. Пик выделенных с воздуха грибов приходился на весенне-летний период (рис. 1).

В зимние месяцы доминировали холодоустойчивые представители рода *Penicillium*, летом превалировали

Табл. 1. Таксономический состав микроскопических грибов, выявленных из воздуха

Отдел/подотдел	Класс	Порядок	Семейство	Род	Вид
Mucoromycota/ Mucoromycotina	Mucoromycetes	Mucorales	Mucoraceae	Rhizopus	<i>R. microsporus</i> Tiegh.
					<i>R. stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill.
Ascomycota/ Pezizo- mycotina	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	Alternaria	<i>A. alternata</i> (Fr.) Keissl.
					<i>A. brassicicola</i> (Schwein.) Wiltshire
		Cladosporiales	Cladosporiaceae	Cladosporium	<i>C. brevicompactum</i> Pidopl. & Deniak
					<i>C. herbarum</i> (Pers.) Link
	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	Aspergillus	<i>A. luchuensis</i> Inui
					<i>A. clavatus</i> Desm.
					<i>A. flavipes</i> (Bainier & Sartory) Thom & Church
					<i>A. flavus</i> Link
					<i>A. fumigatus</i> Fresen.
					<i>A. niger</i> Tiegh.
					<i>A. niveus</i> Blochwitz
					<i>A. nutans</i> McLennan & Ducker
					<i>A. ochraceus</i> K. Wilh.
					<i>A. penicilliioides</i> Speg.
					<i>A. restrictus</i> G. Sm.
					<i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tirab.
				Penicillium	<i>P. adametzii</i> K. W. Zaleski
					<i>P. aurantiocandidum</i> Dierckx
					<i>P. cyclopium</i> Westling
					<i>P. dierckxii</i> Biourge
					<i>P. digitatum</i> (Pers.) Sacc.
					<i>P. lanosum</i> Westling
					<i>P. tardum</i> Thom
			Trichocomaceae	Talaromyces	<i>T. diversus</i> (Raper & Fennell) Samson
					<i>T. purpureogenus</i> (Stoll) Samson
	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Fusarium	<i>F. avenaceum</i> (Fr.) Sacc.
					<i>F. verticillioides</i> (Sacc.) Nirenberg
		Trichosphaeriales	Trichosphaeriaceae	Verticillium	<i>F. oxysporum</i> Schldtl.
					<i>V. cellulosae</i> Dasz.
2/2	4	6	7	8	31

теплолюбивые виды рода *Aspergillus*. В дождливые месяцы года (весна, осень) колониеобразующая единица влаголюбивого рода *Rhizopus* превышает допустимые нормы.

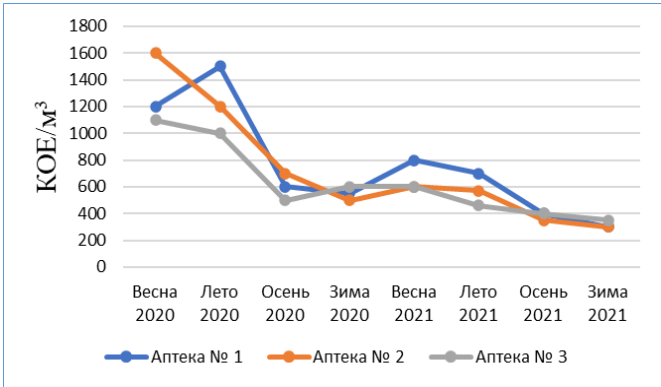


Рис. 1. Сезонная динамика микобиоты аптек

Исследования проводились в течение двух лет. Как свидетельствуют данные рисунка 1, результаты работ 2020-го года, проведенные в 3-х аптеках, показали повышенное количество КОЕ. Однако максимальное ко-

личество колониеобразующих единиц (1700 КОЕ/м³) отмечено в аптеке №1, что объясняется протечкой труб, высокой влажностью помещения и большим количеством посетителей. На следующий год было установлено, что во всех исследуемых аптеках количество КОЕ относительно снизилось, что связано с ремонтом, заменой фильтров системы вентиляции, а также использованием ультрафиолетовых ламп в ночное время.

Учитывая, что микологические работы проводились в период пика пандемии COVID-19, количество посетителей аптек естественно было больше, что вероятно сказалось на повышении заспоренности воздуха.

Следует отметить, что большинство обнаруженных видов грибов, такие как *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus* и др., являются потенциально патогенными и могут нанести вред здоровью человека.

Таким образом, необходимо проведение систематического аэромикологического мониторинга и контроля численности условно-патогенных и аллергенных грибов для оценки состояния помещений исследуемых и других аптек.

Список литературы

1. Kuzikova I. L., and N. G. Medvedeva. "Opportunistic fungi as contaminants of human environment and their potential pathogenicity." *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)* 28, no. 3 (2021): 4-14. DOI: 10.33396/1728-0869-2021-3-4-14
2. Niculita-Hirzel Hélène, Pascal Wild, and Alexandre H. Hirzel. "Season, vegetation proximity and building age shape the indoor fungal communities' composition at city-scale." *Journal of Fungi* 8, no. 10 (2022): 1045. DOI: 10.3390/jof8101045
3. Pokala Hanumantha R., David Leonard, Jennifer Cox, Pat Metcalf, John McClay, Jane Siegel, and Naomi Winick. "Association of

hospital construction with the development of healthcare associated environmental mold infections (HAEMI) in pediatric patients with leukemia." *Pediatric blood & cancer* 61, no. 2 (2014): 276-280. DOI: 10.1002/pbc.24685

4. Жебрак И.С., Манафова А.М. Сезонная динамика и дифференциация аэромикоты помещений учреждения образования (г. Гродно, Беларусь). *Социал.-экол. технол.* 2018; (1): 88–111.
5. Prussin Aaron J., and Linsey C. Marr. "Sources of airborne microorganisms in the built environment." *Microbiome* 3 (2015): 1-10. DOI 10.1186/s40168-015-0144-z
6. <https://www.mycobank.org/> – 27.03.2024.

ОЦЕНКА КСИЛОТРОФНЫХ МАКРОМИЦЕТОВ, РАСПРОСТРАНЕННЫХ В АЗЕРБАЙДЖАНЕ, ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Гасанова В.Я.

Институт Микробиологии Минобрнауки Азербайджанской Республики, Баку

Ксилотрофные макромицеты — основные организмы, обеспечивающие устойчивое существование лесных экосистем путем возврата веществ, находящихся в древесине деревьев, составляющих основу лесов, в круговорот веществ, происходящий в природе. Ксилотрофные макромицеты, входящие в состав гетеротрофного комплекса и играющие важную роль в разложении растительных остатков, выполняют различные функции, такие как продуцирование, разрушение и регулирование в лесных экосистемах, где они обитают, а также имеют хозяйственное значение как лекарственные и пищевые ресурсы. [3; 5; 7].

Как известно, одной из важнейших проблем современности является усиление антропогенного воздействия на лесные экосистемы, в результате чего взаимодействие организмов, составляющих биоразнообразие, приводит к ряду изменений в экосистемах. Эти изменения часто проявляются в различных аспектах, например, в росте заболеваний и возникновении других нежелательных состояний. Именно в последнее время исследования, проводимые по таким вопросам, как получение медицинских препаратов из природных источников для устранения этих нежелательных ситуаций, нашли свое отражение в области современной микологии, микробиологии и биотехнологии. В частности, в исследованиях, проводимых в этом направлении, выяснено, что ксилотрофные макромицеты содержат такие биологически активные вещества, как полисахариды, алкалоиды, тетрациклические тритерпены, эргостерины, стероидные соединения, антибиотики, обладающие иммуномодулирующими, противоопухолевыми и противовоспалительными свойствами. Именно с этой точки зрения цель представленной работы посвящена оценке биологической активности ксилотрофных макромицетов, полученных из естественных и искусственных лесов, расположенных на принадлежащей Азербайджану части Большого Кавказа, включая парки на Апшеронском полуострове [6; 8; 9; 10].

В качестве территории исследования были взяты искусственные и естественные леса, расположенные в части Большого Кавказа, принадлежащей Азербайджану, а также парки, расположенные на Апшеронском полуострове. В качестве объекта исследования были взяты ксилотрофные макромицеты, которые были собраны маршрутным методом и подготовлены для лабораторного анализа. Около 120 полученных плодовых тел идентифицировали в лабораторных условиях с ис-

пользованием известных определителей по культурально-морфологическим и физиологическим признакам грибов. Для получения чистой культуры из плодового тела грибов в лабораторных условиях использовали агаризованный солодовый сок в концентрации 2-3⁰ Б. В ходе исследований для получения биомассы ксилотрофных макромицетов использовали раствор БИН (глюкозо-пептонная среда), представляющий собой преимущественно жидкую питательную среду. В качестве посадочного материала при выращивании использовали пятнадцатидневную биомассу любого гриба. Полученную биомассу использовали в качестве источника биологически активных веществ. [1; 2; 4].

В ходе исследования все эксперименты проводились в 4-х повторностях и полученные результаты обрабатывались статистически.

В первую очередь определили видовой состав ксилотрофных макромицетов, полученный в микологических исследованиях, проведенных в естественных и искусственных лесах Большого Кавказа, охватывающих северную и северо-восточную часть Азербайджана, включающую богатую природу со всеми типами климата, а также в парках Апшеронский полуостров. В ходе исследований получен 51 штамм 11 видов, принадлежащих к 6 родам. Установлено, что все зарегистрированные плодовые тела принадлежат родам *Trametes*, *Fomitopsis*, *Ganoderma*, *Inonotus*, *Laetiporus*, *Pleurotus*, которые входят в класс *Agaricomycetes* отдела *Basidiomycota*. Помимо этого, были определены эколого-трофические связи, типы гнили, вызываемой в естественных условиях, отношения к субстратам зарегистрированных ксилотрофных макромицетов и они описаны в таблице 1.

Как известно, в основе определения типа гнили, производимого ксилотрофными макромицетами в природных условиях, лежит разложение основных полимеров древесных растений (целлюлозы и лигнина). Поэтому посчитали целесообразным изучать этих существ в этом направлении. Как видно из табл. 1 до 72,3% зарегистрированных видов ксилотрофных макромицетов расщепляют лигнин в древесине деревьев и вызывают белый тип гнили, который является доминирующим по отношению к видам, вызывающим бурый тип гнили.

При характеристике ксилотрофных макромицетов по эколого-трофическим связям, согласно таблице 1, можно увидеть, что до 72,3% из зарегистрированных относятся к политрофам, то есть они доминируют над

сапротрофами. Однако среди зарегистрированных грибов биотрофы не обнаружены.

что зарегистрированные грибы не обладают токсическим действием.

Табл. 1. Видовой состав, эколо-трофические связи, типы гнили, отношения к субстратам, число штаммов ксилотрофных макромицетов, зарегистрированных в Большом Кавказе и Апшеронском полуострове Азербайджана

№	Виды грибов	Эколо-трофическая связь	Цвет гнили, вызываемой в естественных условиях	Отношения к субстратам	Количество штаммов
1	<i>Trametes pubescens</i>	Политроф	Белая	Эвритроф	6
2	<i>Trametes zonatus</i>	Сапротроф	Белая	Эвритроф	5
3	<i>Trametes ochraceus</i>	Сапротроф	Белая	Эвритроф	5
4	<i>Trametes suaveolens</i>	Политроф	Белая	Эвритроф	3
5	<i>Trametes versicolor</i>	Сапротроф	Белая	Эвритроф	4
6	<i>Fomitopsis pinicola</i>	Политроф	Бурая	Эвритроф	4
7	<i>Ganoderma applanatum</i>	Политроф	Белая	Эвритроф	4
8	<i>Ganoderma lucidum</i>	Политроф	Белая	Эвритроф	5
9	<i>Inonotus hispidus</i>	Политроф	Бурая	Эвритроф	6
10	<i>Laetiporus sulphureus</i>	Политроф	Бурая	Эвритроф	4
11	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Политроф	Белая	Эвритроф	5

Следует отметить, что также было изучено распределение полученных в ходе исследований грибов по субстрату и выяснено, что они являются эвритрофами. Преобладание эвритрофов и политрофов, с одной стороны, является положительным, т.е. играет важную роль в разложении растительных остатков и возвращении содержащихся в древесине веществ в круговорот веществ в природе, но, с другой стороны, снижает качество древесных растений как растений.

На следующем этапе исследований биологическую активность зарегистрированных грибов оценивали по количеству биомассы, полученной методом глубокого культивирования в жидком растворе БИН на 5-й день их развития. Прежде всего в качестве продуцентов биологически активных веществ были выбраны наиболее быстрорастущие штаммы и установлено, что каждый из грибов обладает способностью расти в растворе БИН. Однако, как видно из таблицы 2, они отличаются друг от друга по количеству производимой биомассы.

Из таблицы 2 также видно, что *Trametes versicolor* и *Ganoderma lucidum* производят больше биомассы, чем другие виды. Поэтому именно эти грибы были выбраны в качестве продуцентов биологически активных веществ, поскольку они проявляют более высокую метаболическую активность, чем другие.

В ходе исследований также была исследована токсичность биомассы и культурального раствора, богатого биологически активными веществами. Установлено,

Табл. 2. Количество биомассы, продуцируемой зарегистрированными грибами

№	Виды грибов	Длительность образования биомассы (дни)	Количество биомассы (г/л)
1	<i>Trametes pubescens</i>	5	2,7-4,5
2	<i>Trametes zonatus</i>		2,4-4,3
3	<i>Trametes ochraceus</i>		1,5-3,4
4	<i>Trametes suaveolens</i>		1,8-4,0
5	<i>Trametes versicolor</i>		4,5-8,0
6	<i>Fomitopsis pinicola</i>		1,1-2,3
7	<i>Ganoderma applanatum</i>		1,4-3,5
8	<i>Ganoderma lucidum</i>		4,0-4,7
9	<i>Inonotus hispidus</i>		1,5-3,8
10	<i>Laetiporus sulphureus</i>		0,6-3,0
11	<i>Pleurotus ostreatus</i>		1,5-3,8

Таким образом, в результате исследований было установлено, что естественные и искусственные леса, расположенные в принадлежащей Азербайджану части Большого Кавказа, в том числе парки на Апшеронском полуострове, имеют богатую микобиоту. Преобладание на этих территориях возбудителей белой гнили позволяет использовать их при биодegrадации растительных остатков, а также при микробиологической утилизации растительных отходов, повышать эффективность процесса, делать получаемую продукцию выгодной с санитарно-токсикологической точки зрения. Также, поскольку биологически активные вещества (БАВ) в биомассе и культуральных растворах, вырабатываемых этими грибами, не оказывают токсического действия, их используют в качестве природного источника при приготoвлении медицинских препаратов, производстве продуктов питания и кормопроизводстве.

Список литературы

1. Бондарцева М.А. Определитель грибов России. Порядок афиллофоровые. СПб.: Наука, 1998, вып. 2, 391с.

2. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии// Под. ред.. Киев: Наукова думка, 1982, 500 с.

3. Караева А.М., Аббасова Т.С., Искендер Э.О., Алибейли Н.С., Сулейманова В.О. Видовое рвзнообразие ксилотрофных грибов, распространенных на некоторых деревьях в условиях Азербайджана // Научные труды Института Микробиологии НАНА, 2016, т. 14, № 1, с. 81–85

4. Нетрусов А.И, Егорова М.А., Захарчук Л.М. и др. Практикум по микробиологии. М.: Издательский центр «Академия», 2005, 608 с.

5. Akhundova N., Orucova S., Bahshaliyeva K., Muradov P. and Rahimov E. Evaluation by the Oxidase Activity of Xylotropic Macromycetes Causing White Decay. Advances in Bioscience and Biotechnology, 2019, v.10, p.179–18

6. Baxi S.N., Portnoy J.M., Larenas-Linnemann D. et al. Exposure and Health Effects of Fungi on Humans.// Journal Allergy Clin. Immunol Pract., 2016, v. 4(3), p.396–404

7. Muradov P.Z. Basics of Biological Conversion of Plant Substrates. Baku: “Science”, 2003, 114 p.

8. Nelson G.C., Bennett A. A., Berhe K., Cassman R. et al. Anthropogenic drivers of ecosystem change: an overview// Ecology and Society, 2006, v. 11(2), p.29.

9. Omar Alejandro Rivera , William Albarracín , Mary Lares. Bioactive Components of Shiitake (Lentinula edodes Berk. Pegler) and their impact on health, AVFT, 2017. vol. 36, № 3, p. 67-71

10. Porter-Goff E.R., Boylen C.W. and Nierzwicki-Bauer S. A.Periphyton dynamics along a stream with a gradient of human impact.// J.Freshw. Ecol., 2010, v. 25, p. 385–394

ТЕРМОФИЛЬНЫЕ И ТЕРМОТОЛЕРАНТНЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ ЗА ПОЛЯРНЫМ КРУГОМ

Ильюшин В.А.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова (БИН РАН), Санкт-Петербург

Грибы способны существовать при постоянно высоких температурах. В зависимости от оптимальной температуры роста, их можно разделить на термофильные и термотолерантные. Так, грибы считаются термофилами, если оптимальная температура роста составляет 45 °C или выше (Mouchacca, 2000). Термотолерантные и термофильные грибы обитают в самых разнообразных местах, где нагревается субстрат: компостные ямы, птичьи гнезда, термальные источники, пустыни и т.д. Одним из таких местообитаний являются отвалы угольных шахт и карьеров, на поверхности и в толще которых может идти локальных нагрев породы.

Цель работы - проведение скрининга термофильных и термотолерантных микромицетов в условиях высоких широт Арктики.

Образцы для микологического исследования были отобраны из угольных отвалов вблизи поселка Баренцбург на архипелаге Шпицберген, вблизи города Воркута Республики Коми, вблизи города Сусуман Магаданской области. Образцы породы получены из сформированных (эксплуатируемых) отвалов и отвалов с горелой (обожженной) породой, расположенных в трех природных зонах (арктическая тундра, южная тундра и лесотундра). Для выделения микромицетов был использован метод прямого посева небольших фрагментов субстрата (Дудка и др., 1982). Для выделения грибы культивировали на твердых средах Чапека (CZ) и Сабуро при температуре 45°C. Идентификацию проводили, как традиционными морфологическими методами, так и молекулярными. В качестве филогенетических маркеров ITS, LSU, RPB2 (White et al., 1990; O'Donnell, 1993; Houbroken & Samson, 2011). Скорость роста в зависимости от температуры термофильных и термотолерантных микромицетов изучали при 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 45°C, 50 °C, 55°C, 60°C, 62°C, 65°C.

В результате было выделено 8 культур микромицетов, относящихся к 6 видам, которые способны расти при температурах 45°C и выше. Четыре вида (шесть штаммов) грибов, устойчивых к температурному фактору, были выделены из формируемого отвала Шпицбергена. Два изолята *Aspergillus waksmanii*, IVA-14 и IVA-T16, и изолят IVA-T4 *Rasamsonia byssochlamydoides* относились к термотолерантным видам. Настоящими термофилами были два изолята, IVA-T1 *R. emersonii* и IVA-T11 *Thermoascus aurantiacus*. Первый из них характеризовался относительно узким температурным оптимумом в 45-50°C, а также высокой максимальной температурой роста в 60°C. Второй изолят, напротив, характеризовался очень широким температурным оптимумом в 40-60 °C и чрезвычайно высокой максимальной температурой роста в 62 °C. Три термотолерантных гриба были выделены из горелых пород Шпицбергена (IVA-T2, IVA-T7) и Республики Коми (IVA-T6). Два изолята принадлежали к термотолерантным видам рода *Aspergillus*. Для IVA-T2 *A. waksmanii* температурный оптимум составлял 35-45 °C. IVA-T6 *A. spinosus* характеризовался более низким температурным оптимумом в 30-40 °C. Для третьего вида, *R. cylindrospora* IVA-T7, оптимальная температура роста была выше – 40-50°C, что, с допущением, позволяет отнести этот вид к термофильным. Термофильные и термотолерантные грибы не были выделены из отвалов Магаданской области.

Все изолированные термотолерантные и термофильные виды из изученных нами техногенных экосистем принадлежали к трем родам порядка Eurotiales: *Rasamsonia*, *Aspergillus* и *Thermoascus*. Два вида принадлежали к роду *Rasamsonia*. Все виды этого рода характеризуются как термотолерантные или термофильные (Houbroken et al., 2012). Один из идентифицированных нами видов принадлежал к роду *Thermoascus*. Это не большой род, представленный исключительно термофилами (Houbroken et al., 2020). Четыре изолята, устойчивые к высоким температурам, принадлежали двум видам рода *Aspergillus*. Это широко распространенный и многочисленный род, его представители занимают множество экологических ниш и встречаются в самых разнообразных средах обитания, включая экстремальные экосистемы с повышенными температурами. Большинство термотолерантных видов относятся к секции *Fumigati*, как и выделенные нами виды.

Таким образом, полученные данные указывают на присутствие термофильных и термотолерантных грибов в отвалах угольных шахт за Полярным кругом.

Список литературы

1. Houbroken, J. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): an overview of families, genera, subgenera, sections, series and species / J. Houbroken, S. Kocsu, C. M. Visagie, N. Yilmaz, X.-C. Wang, M. Meijer, B. Kraak, V. Hubka, K. Bens, R.A. Samson, J. C. Frisvad // *Studies in Mycology*. - 2020. - Vol. 95. - P. 5-169.
2. Houbroken, J. *Rasamsonia*, a new genus comprising thermotolerant and thermophilic *Talaromyces* and *Geosmithia* species / J. Houbroken, H. Spierenburg, J. C. Frisvad // *Antonie van Leeuwenhoek*. - 2012. - Vol. 101. - P. 403-421.
3. Mouchacca, J. Thermophilic fungi and applied research: A synopsis of name changes and synonymies / J. Mouchacca // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. - 2000. - Vol. 16. - P. 881-888.
4. Дудка, И. А. Методы экспериментальной микологии: Справочник / И. А. Дудка, С. П. Вассер, И. А. Элланская и др.; Отв. ред. В. И. Билай. - Киев: Наук. думка, 1982. - 550 с.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГРИБОВ – КОНТАМИНАНТОВ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Кантор К.В., Кантерова А.В., Данилова Д.Ю., Сидоренко А.В.

Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск

Дрожжи и плесневые грибы способны вызывать порчу различных продуктов питания, нанося значительный экономический ущерб производителям и создавая угрозу продовольственной и пищевой безопасности [1]. Молочные продукты подвергаются воздействию микроорганизмов-контаминантов значительно реже прочих продуктов, т.к. обычно хранятся при низких температурах и изготавливаются из термически обработанного молока. Кроме того, большинство из них характеризуется наличием собственной конкурентоспособной микробиоты (в первую очередь, молочнокислых бактерий). Тем не менее, в настоящее время описано порядка 100 видов плесневых грибов и 60 видов дрожжей, вызывающих порчу молока, сыров, творога, йогуртов и молочных напитков. Среди плесневых грибов наиболее распространены представители отделов *Ascomycota* и *Mucoromycota*. Из сумчатых грибов частыми контаминантами выступают виды рода *Penicillium* (порядка 40 видов), которые в основном выделяются из твердых и полутвердых сыров, но также встречаются в других продуктах, включая мягкие и полумягкие сыры, сливочное масло, йогурт, молоко. Помимо пенициллов, загрязнителями молочной продукции часто выступают грибы родов *Aspergillus* (порядка 10 видов) и *Cladosporium* (7 видов). Мукоромицеты, выделяемые из молочных продуктов с признаками плесневого поражения, обычно относятся к родам *Mucor* (4 вида), *Rhizopus* (1 вид) и *Thamnidium* (1 вид) [2].

Среди дрожжей наиболее распространенными контаминантами молочной продукции также являются представители отдела *Ascomycota*. В большинстве случаев это дрожжи рода *Candida*, видов *Candida parapsilosis*, *Candida lusitanae*, *Candida inconspicua* и *Candida intermedia* [2]. Кроме того, порчу молочных продуктов могут вызывать дрожжи родов *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Yarrowia* и *Cyberlindnera*, преимущественно выделяемые из мягких или незрелых продуктов, таких как свежий сыр или йогурт. Среди отдела *Basidiomycota* в испорченных молочных продуктах часто встречаются представители родов *Rhodotorula* (*R. diffluens*, *R. glutinis* и *R. mucilaginosa*) и *Cryptococcus* (*C. humicola*, *C. laurentii*, *C. pseudolongus* и *C. minuta*) [2].

Цель исследования – выделение и идентификация мицелиальных и дрожжевых грибов из образцов молочной продукции с признаками микробиологической порчи.

Объектами исследования являлись 16 образцов сыра и 1 образец творога со следами плесневого поражения, 11 образцов рассола для посолки сыра и 2 образца сырого коровьего молока.

Материалы и методы. Для выделения дрожжей и мицелиальных грибов из сыра образцы с видимыми признаками порчи помещали на поверхность сусло-агара (7 Б) и агаризованной среды Чапека, инкубировали при 22–24°C в течение 7 суток, после чего анализировали количество колоний с различной морфологией. Сформировавшиеся колонии разных морфотипов рассевали до изолированного состояния. Для выделения дрожжей и грибов из рассола и молока производили ряд десятикрат-

ных разведений исследуемых образцов в физиологическом растворе, после чего по 0,1 мл из 10^0 – 10^{-4} разведений высевали на поверхность сусло-агара (7 °Б) и агаризованной среды Чапека. Первичную идентификацию выделенных культур микроорганизмов осуществляли на основании морфологии колоний и клеток. Видовую принадлежность дрожжевых изолятов устанавливали методом MALDI-TOF масс-спектрометрического анализа тотальных клеточных белков по стандартной методике. Полученные белковые спектры сравнивали с референсными спектрами из базы данных Bruker Database Version 3.3.1.0 с помощью программного обеспечения MALDI Biotyper. Кроме того, идентификацию выделенных культур мицелиальных и дрожжевых грибов проводили с помощью сравнительного анализа нуклеотидной последовательности области внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS области) и гена 18S рРНК. Для выделения геномной ДНК использовали модифицированный метод ЦТАБ/ДСН. Амплификацию проводили с праймерами ITS1 (5'-tccgtaggtgaacctgcgg-3') и LR3 (5'-ccgtgtttcaagacggg-3') (для мицелиальных грибов) или NS1 (5'-gtagcatatgctgtctc-3') и NS4 (5'-cttcgctcaattccttaag-3') (для дрожжей) по оптимизированным протоколам. Секвенирование фрагментов ДНК проводили методом терминации цепи по Сэнгеру в термоциклической реакции с мечеными праймерами ITS1 (для мукоромицетов) и NS1 (для дрожжей). Для постановки секвенирующей реакции использовали набор «DNA Cycle Sequencing Kit» (Jena Bioscience) согласно инструкции производителя. Разделение и детекцию продуктов секвенирующей реакции проводили на ДНК-анализаторе «4300 DNA Analyzer» (Li-COR Biosciences) с соответствующим программным обеспечением. Результаты секвенирования анализировали с помощью программного пакета eSeq V.3.1 (Li-COR Biosciences). Сравнительный анализ секвенированных нуклеотидных последовательностей и референсных нуклеотидных последовательностей из базы данных Ген-Банк осуществляли с помощью программы BLASTN.

Результаты исследования. При исследовании 30 образцов молочных продуктов с признаками микробиологической порчи в 80% из них обнаружены плесневые грибы, в 63% – дрожжи. Всего выделено 60 культур микроорганизмов, 35% из которых относятся к дрожжам, 65% – к мицелиальным грибам (таблица 1).

Все изоляты, за исключением мукоромицетов *Cadophora malorum*, выделенных из трех образцов рассола, и *Microsphaeropsis spartii-juncei* (рисунок 1), изолированных из одного образца сыра, являются типичными контаминантами молочной продукции. *C. malorum* представляет собой сапрофитный гриб и может выступать в качестве патогена, вызывая гниль яблони и груши. *M. spartii-juncei* – космополитный вид, который часто выделяется из растений Метельника ситникового (*Spartium junceum*) [3]. Вероятно, данные микроорганизмы могли попасть в продукцию из воздуха молочных комбинатов или поступающего на переработку молочного сыря.

Табл. 1. Видовое разнообразие микромицетов и дрожжей, выделенных из молочных продуктов с признаками микробиологической порчи

Род	Вид	Количество полученных изолятов
<i>Penicillium</i>	<i>roqueforti</i>	6
	<i>bialowiezense</i>	2
	<i>brevicompactum</i>	1
	<i>sp.</i>	9
<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>	2
	<i>ramotenellum</i>	1
	<i>sp.</i>	3
<i>Cadophora</i>	<i>malorum</i>	3
<i>Didymella</i>	<i>pinodella</i>	3
<i>Aspergillus</i>	<i>sp.</i>	3
<i>Fusarium</i>	<i>avenaceum</i>	2
<i>Geotrichum</i>	<i>candidum</i>	1
<i>Thamnidium</i>	<i>elegans</i>	1
<i>Microsphaeropsis</i>	<i>spartii-juncei</i>	1
<i>Candida</i>	<i>famata</i>	7
	<i>guilliermondii</i>	3
	<i>sake</i>	2
	<i>intermedia</i>	1
	<i>sp.</i>	4
<i>Kluyveromyces</i>	<i>marxianus</i>	1
	<i>lactis</i>	1
<i>Debaryomyces</i>	<i>sp.</i>	2



Рис. 1. Внешний вид *M. spartii-juncei* на чашке с сусло-агаром (24°C, 10 суток)
Большинство выделенных мицелиальных грибов относились к родам *Penicillium* (18 культур) и *Cladosporium* (6 изолятов). Среди дрожжей наиболее

часто обнаруживались представители рода *Candida* (13 культур), из которых доминировали *C. famata* (7 культур) и *C. guilliermondii* (3 культуры).
При анализе грибной обсемененности различных типов продуктов установлено, что наименьшим видовым разнообразием характеризовалось сырое молоко, из которого выделено 2 изолята (дрожжи *C. sake* и *K. marxianus*), и творог (изолят мукомомицета *T. elegans*). Незначительное разнообразие контаминирующих микроорганизмов обнаружено в образцах рассола для посолки сыра: в 80% случаев из них выделены дрожжи рода *Candida* (12 культур), 5 из которых относились к виду *C. famata*, 3 – *C. guilliermondii*. Кроме того, из 10 образцов рассола были изолированы грибы рода *Penicillium*, из 2 образцов – родов *Aspergillus* и *Cladosporium*.
Наибольшим видовым и родовым разнообразием контаминирующих дрожжей и микромицетов характеризовались образцы сыра. При исследовании 5 образцов сыра было получено 7 изолятов дрожжей, относящихся к видам *C. famata* (2 изолята), *C. sake*, *C. intermedia*, *K. lactis*, *Debaryomyces sp.* (2 изолята) и 20 изолятов грибов, принадлежащих к 7 родам. Доминирующими контаминантами оказались представители родов *Penicillium* (8 изолятов) и *Cladosporium* (4 изолята), видов *P. roqueforti* (5 изолятов) и *D. pinodella* (3 изолята).
Таким образом, в результате исследования установлено, что все полученные культуры, за исключением изолята *T.elegans*, относятся к отделу *Ascomycota*. Среди дрожжевых грибов наиболее часто обнаруживались виды рода *Candida*, среди мицелиальных – представители родов *Penicillium* и *Cladosporium*. Превалирующее большинство полученных культур представляет собой типичные контаминанты молочной продукции.

Список литературы

1. Benedict K., Chiller T.M., Mody R.K. Invasive Fungal Infections Acquired from Contaminated Food or Nutritional Supplements: A Review of the Literature. Foodborne Pathog Dis. – 2016. – № 13(7). – P. 343–349.
2. Garnier L., Valence F., Mounier J. Diversity and Control of Spoilage Fungi in Dairy Products: An Update. Microorganisms. – 2017. – №5(3). – P.42.
3. Wanasinghe D.N., Jeewon R., Peršoh D. Taxonomic circumscription and phylogenetics of novel didymellaceous taxa with brown muriform spores. Studies in Fungi. – 2018. – Vol. 3, № 1. – P. 152–175.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ МИКОКОМПЛЕКСОВ ВОДЫ ПРИБРЕЖНЫХ И ОТКРЫТЫХ УЧАСТКОВ ЧЁРНОГО МОРЯ

Копытина Н.И.¹, Бочарова Е.А.²
¹Институт биологии внутренних вод имени И.Д. Папанина, РАН, Борок
²Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН, Севастополь

Видовой состав грибов, их пространственное распределение, влияние абиотических факторов на структуру микокомплексов в пелагиали Мирового океана изучены недостаточно [1, 2]. В Чёрном море проведены единичные исследования комплексов планктонных грибов некоторых прибрежных районов [3, 4] и открытых акваторий полуострова Крым и Кавказа [5]. Работ, в которых было бы проведено сравнение планктонных

микокомплексов прибрежных и открытых акваторий Чёрного моря нет. Сравнительный анализ структуры микокомплексов из районов с различными экологическими условиями, исследованных в один сезон представляет научный интерес.

Одесский морской регион испытывает влияние стока рек Днепр (93.4%), Южный Буг (5.7%) и открытой части моря. В береговой зоне находятся города Одесса, Черноморск, Южный, поэтому акватория подвержена сильной антропогенной нагрузке со стороны городов и их портов, судоходства, дноуглубления неочищенных ливневых и дренажных стоков.

Дунай – вторая по протяжённости и полноводности река в Европе, её протяженность – 2860 км, жидкий сток – 208 км³/год, твердый сток – 51.7 106 т/год [6]. Дноуглубительные работы при строительстве канала Дунай – Чёрное море и складирование грунта на подводные отвалы (дампинг) вызывают снижение прозрачности, дополнительное поступление в среду биогенных и загрязняющих веществ, что приводит к ухудшению качества водной среды, эвтрофированию и вторичному загрязнению.

Цель – провести сравнительный анализ видовой структуры культивируемых микроскопических грибов прибрежных и открытых акваторий Чёрного моря в летний период 2011 г.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Летом 2011 г. взяты пробы воды в Одесском морском регионе (ОР), авандельте реки Дунай (АД, потамоконтур) и во время рейса НИС «Профессор Водяницкий» (г. Севастополь) (ПВ 70). Во время рейса работы проводили у берегов полуострова Крым и в северо-западной части Чёрного моря (табл. 1, рис. 1).

Табл. 1. Данные о количестве проб и параметрах окружающей среды

Район, рейс №	Дата	Количество проб	Температура воды, °C, min-max	Соленость воды, ‰, min-max
Одесский регион	08–09, 15.07.2011	23	19.2–24.6	13.11–16.89
Авандельта р. Дунай	28–19.07.2011	13	15.5–24.8	0.0–13.2
Рейс № 70	18–29.08.2011	22	19.5–26.3	15.9–18.4

Пробы воды отбирали пластмассовыми батометрами объемом 10 л с глубины 1 м. Грибы выделяли на агаре Чапека, приготовленном на естественной морской воде с места отбора проб. В чашку Петри вносили 1 мл воды затем заливали расплавленной агаризированной средой с температурой 40–45°C. В среду добавляли 0.03 % левомицетина (от объема среды) для подавления роста бактерий [7]. Материал проращивали в термостате при температуре 18–20°C в течение 2–8 недель.

Для идентификации грибов использовали работы Билай, Коваль [8], Саттон и др. [9], Clinical fungi Atlas [10] и др. Систематика грибов соответствует изложенной в электронной базе данных Index Fungorum [11].

Результаты исследований проанализированы с помощью программ MS Excel и пакета PRIMER® 5.2.8. (функции Similarity, MDS, DIVERSE, Anosim). Сходство структурной организации микокомплексов по районам,

оценивали по значениям индекса сходства Брей-Куртиса [12].

Карта-схема отбора проб исполнена с применением программы Surfer 12.

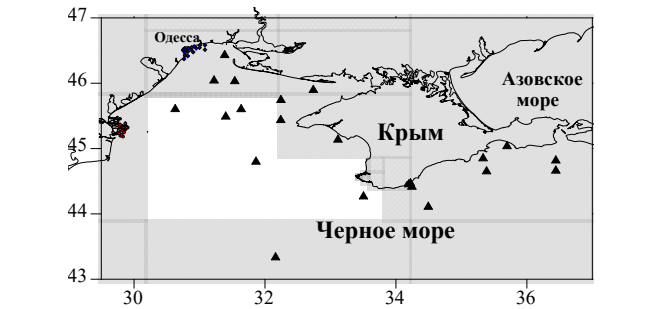


Рис. 1. Карта-схема отбора проб в районах исследования

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В поверхностном слое воды прибрежных районов и открытой части Чёрного моря обнаружено 46 видов грибов из 14 родов, 11 семейств, 5 классов, отделов Ascomycota и Mucoromycota. По числу видов доминировало семейство Aspergillaceae (*Aspergillus* – 18, *Penicillium* – 7, *Talaromyces* – 1). В пелагиали авандельты р. Дунай и в рейсе № ПВ 70 по 15 видов, в Одесском регионе – 18. Второе ведущее семейство – Pleosporaceae содержит 8 видов: в районе АД – 4 вида, ОР – 5, ПВ 70 – 6.

Сходство видового состава изменялось от 46.2 (АД и ПВ 70) до 59.0 % (ОР и ПВ 70), однако сходство комплексов по количественным характеристикам было значительно ниже от 5.7 (АД и ПВ 70) до 15.4% (АД и ОР). Количественные характеристики микокомплексов представлены в таблице 2.

Табл. 2. Показатели видового богатства и средней численности грибов (± стандартное отклонение) в поверхностном горизонте воды разных районов Чёрного моря летом 2011 г.

Район/№ рейса	Число видов, (средняя насыщенность проб; min-max)	Численность, КОЕ/л, min-max
Одесский регион	31 (5; 3–10)	17206±8535 (4050–36000)
Авандельта р. Дунай	22 (3; 1–5)	62600±44006 (5000–166000)
Рейс № 70	30 (5; 2–10)	61477±70839 (1000–311000)

Anosim – анализ не выявил статистически значимых различий между районами: минимальное значение R = 0.255 (между ОР и Д), максимальное R = 0.418 (между ОР, ПВ 70) при уровне статистической достоверности 0.1%. Разную степень сходства микокомплексов демонстрирует график MDS-ординации, значение показателя Stress = 0.14 (меньше 0.2) свидетельствует о высокой точности распределения символов данных (рис. 2).

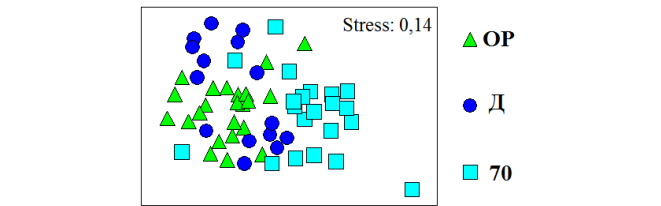


Рис. 2. Неметрическое многомерное масштабирование в двух измерениях (MDS-ординация) микокомплексов на станциях разных районов Чёрного моря на основе относительного сходства по количественным показателям.

Одесский регион и авандельта р. Дунай расположены в северо-западной части моря, оба района испытывают высокую антропогенную нагрузку и влияние речного стока. Эти факторы объясняют значительное сходство видового состава – 14 общих видов, но в патамоконтуре р. Дунай средняя численность грибов превышала 3.6 раз численность в ОР при меньшем числе выделенных видов.

Только в ОР обнаружены виды: *Alternaria cichorii* Natrass 1937, *A. porri* (Ellis) Cif. 1930, *Aspergillus clavatus* Desm. 1834, *Acremonium alabamense* Morgan-Jones 1974, *Phialemonium atrogriseum* (Panas.) Dania García, Perdomo, Gené, Cano & Guarro 2013, *Sarocladium kiliense* (Grütz) Summerb. 2011; авандельте Дуная – *Aspergillus flavipes* (Bainier & R. Sartory) Thom & Church 1926, *Pseudallescheria boydii* (Shear) McGinnis, A.A. Padhye & Ajello 1982, *Stachybotrys chartarum* (Ehrenb.) S. Hughes 1958; в открытом море – *Alternaria longipes* (Ellis & Everh.) E.W. Mason 1928, *Aspergillus granulosus* Raper & Thom 1944, *A. ochraceus* G. Wilh. 1877, *Cunninghamella elegans* Lendn. 1907 (отдел Mucogomycota), *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch 1924. Представители семейства Aspergillaceae и Pleosporaceae составляли 86.4% в районе АД, в ОР – 74.2%, в рейсе ПВ 70 – 70.0%. Агрегация организмов по поливидовым ветвям указывает на неблагоприятные условия среды во всех районах исследования [Clarke, Warwick, 2001].

В районах исследования отмечено присутствие широко распространенных терригенных видов родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, а высокая агрегация видов по семействам Aspergillaceae и Pleosporaceae от 70.0 до 86.4% свидетельствует о неблагоприятных условиях во всех исследованных районах летом 2011 г., несмотря на большую разницу в солёности воды.

Работа выполнена за счет государственных заданий: “Института биологии внутренних вод имени Д.И. Папанина РАН” “Разнообразие, структура, функционирование и роль вирусов, прокариотных и эукариотных микроорганизмов в формировании биологического режима континентальных вод” (№121051100102-2) и ФИЦ “Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН” “Комплексное исследование механизмов функционирования биотехнологических комплексов с целью получения активных веществ из гидробионтов” (№1023032700554-2-1.6.16).

Список литературы

1. Pham T.T., Dinh K.V., Nguyen V.D. Biodiversity and enzyme activity of marine fungi with 28 new records from the tropical coastal ecosystems in Vietnam. *Mycobiology*. 2021. Vol. 49, № 6. PP. 559–581. doi: 10.1080/12298093.2021.2008103
2. Wang X., Singh P., Gao Z., Zhang X., Johnson Z.I., Wang G. Distribution and diversity of planktonic fungi in the west Pacific warm pool. *PLoS One*. 2014. Vol. 9, № 7. P. e101523. doi: 10.1371/journal.pone.0101523
3. Копытина Н.И., Тарасюк И.В. Водные грибы пелагиали авандельты реки Дунай. *Микробиология и биотехнология*. 2010. № 1. С. 37–43.
4. Копытина Н.И. Микобиота пелагиали Одесского региона северо-западной части Чёрного моря. *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2020. № 52. С. 140–163. doi: 10.17223/19988591/52/8
5. Копытина Н.И., Родионова Н.Ю., Бочарова Е.А. Влияние абиотических факторов на структуру комплексов грибов в пелагиали Чёрного и Азовского морей летом 2019 г. *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2023. № 62. С. 109–128. doi: 10.17223/19988591/62/6
6. Зайцев Ю.П. Введение в экологию Чёрного моря. Одесса: Эвен. 2006. 224 с.
7. Методы экспериментальной микологии. Справочник / ред. В.И. Билай. Киев: Наукова думка, 1982. 550 с.
8. Билай В.И., Коваль Э.З. Аспергиллы: Определитель. Киев: Наукова думка, 1988. 202 с.
9. Саттон Д., Фотергил А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М.: Мир, 2001. 468 с.
10. Clinical fungi Atlas of clinical fungi / De Hoog G.S., Guarro J., Gené J., Figueras M.J. editors. Utrecht: CBS; Spain: Reus; 2000. 1126 p.
11. Index Fungorum [Electronic resource]. Available at: <http://www.indexfungorum.org/> (accessed 29.03.2024)
12. Clarke K.R., Warwick R.M. A further biodiversity index applicable to species lists: variation in taxonomic distinctness. *Marine Ecology Progress Series*. 2001. Ser. 216. PP. 265–278.

ГРИБЫ КАК АКТИВНЫЕ АГЕНТЫ БИОПОВРЕЖДЕНИЙ ДРЕВЕСИНЫ ДЕРЕВЯННЫХ КОНСТРУКЦИЙ В ПОЧВЕННО-КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ ЮЖНО-ТАЕЖНОЙ ПРИРОДНОЙ ЗОНЫ

Ларина Г.Е., Серая Л.Г.

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Большие Вяземы

Введение. Большой интерес в строительстве и озеленении представляют конструкции из природных материалов, в частности, из древесины разных пород деревьев. В составе древесины содержатся такие высокомолекулярные полимерные комплексы веществ, как полисахариды (лигнин и целлюлоза). Грибы разных групп как агенты биоповреждений древесины, способны отщеплять олигомеры от биополимеров и разлагать труднодоступные полисахариды до полной минерализации природных материалов [1,2]. Биоповреждение

грибами начинается с момента воздействия неблагоприятных температурно-влажностных условий на деревянные конструкции. Возникают очаги поражения с разными симптомами поражения деревоокрашивающими и плесневыми грибами: древесина изменяет естественный цвет на красный, желтый, бурый и коричневый; на поверхности обреза пиломатериала признаки синевы; появляются налеты мицелия, спороношения, гнили. Мицелий микромицетов способен проникать в микротрещины на любую глубину конструкции. После

заселения механических повреждений в древесине увеличивается объем микроорганизмов и рост биомассы, что приводит к дальнейшему расширению заселенных микротрещин и появлению новых [3].

В последние годы получило «второе дыхание» дачное строительство с направленностью применения экологически безопасных конструкций из древесины. В условиях влажного климата и высокого уровня грунтовых вод есть риск создания благоприятных условий для активного роста плесневых и дереворазрушающих грибов [4]. В результате строения быстро приходят в негодность, увеличиваются риски для здоровья человека.

Цель работы изучение состава грибного комплекса на деревянных конструкциях каркасного дома в почвенно-климатических условиях южно-таежной природной зоны.

Методы и объекты. Исследования проводили в деревянных каркасно-щитовых домах из сосны обыкновенной на свайно-винтовом фундаменте. Установку строений проводили в зимний период, в весенне-осенний период – этап усадки. Для определения фактического состава и состояния деревянных частей конструкции проводили выборочные вскрытия весной следующего года. Отбор средних образцов делали в следующих местах – каркас, внутренние перегородки и дверные проемы. Пробы снабжали этикетками и доставляли в специализированную лабораторию для проведения инструментальных исследований. Из образцов древесины в лабораторных условиях на базе отдела патологии декоративных и садовых культур ФГБНУ ВНИИФ традиционными методами микробиологии (влажная камера, посев на твердые агаризованные среды) выделяли микромицеты. Идентификацию видовой принадлежности агентов-биодеструкторов в составе патоконплекса проводили по морфологическому строению с использованием специализированных определителей [5].

Систематизацию и анализ данных проводили с помощью программных средств Microsoft Excel (2013). Для обработки данных использовали дисперсионный анализ при 95%-ом уровне вероятности (P_{α}).

Результаты и обсуждение.

Через год, после установки на постоянное место деревянных каркасно-щитовых домов из сосны обыкновенной на свайно-винтовом фундаменте в условиях южно-таежной природной зоны, на обследуемых конструкциях зафиксировано изменение цвета древесины (синевая, черные и бурые пятна). Деформации наблюдали в исключительных случаях – при нарушении технологии доставки, хранения и установки материалов из древесины.

При разложении сосновой древесины выделено несколько фаз распада или красная гниль, которая формируется поэтапно под влиянием специфической флоры: 1) представлена деревоокрашивающими грибами рода *Alternaria*, *Cladosporium*, *Stemphylium*; 2) активными базидиомицетами и/или ксилотрофными базидиальными макромицетами, разрушающими лигноцеллюлозные связи, спутниками которых являются грибы рода *Penicillium*; 3) полное использование питательной среды; 4) обилие микромицетов рода *Trichoderma*, *Mucor*, *Aspergillus*.

В составе грибного комплекса определены потенциально (условно) патогенные микромицеты, способные разлагать древесину: плесневые грибы рода *Penicillium*, *Aspergillus*, грибы-аскомицеты семейства Гипокреиные (Нурогреевые) рода *Trichoderma*. Частота встречаемости (или степень равномерности распределения в простран-

стве) микромицетов рода *Aspergillus* составила от 30% до 100%, *Penicillium* – 50-100%, *Trichoderma* – 10-50%. Высокое распространение плесневых грибов объясняется испарениями из грунта под домом как источника повышенной влаги, который можно изолировать с помощью дренажных материалов и песчаной «подушки».

На ростовые процессы грибов-биодеструкторов влияют внешние факторы. Так, для роста грибов рода *Penicillium* наиболее благоприятной является температура в границах от +23°C до +24°C и от +35°C до +40°C при влажности 66%. С учетом комбинации факторов температура и влажность микромицеты образуют основной ряд по увеличению их способности использовать древесину в качестве субстрата: *Penicillium* - *Trichoderma* - *Aspergillus*. Рост мицелия прекращается при полном использовании питательной среды или при переходе гриба в следующие стадии развития, связанные с размножением.

Оценка скорости роста выделенных из образцов древесины грибов в контролируемых условиях показала, что они относятся быстрорастущим с высокой скоростью роста в диапазоне от 3 до 6 мм/ч. Это позволяет заключить, что через год после установки на постоянное место каркасно-щитового дома средства защиты от плесени, нанесенные на поверхность древесных конструкций, теряют своих фунгицидные свойства против дереворазрушающих грибов.

Заклучение. Установлен патоконплекс микромицетов на древесине каркасно-щитового дома из сосны обыкновенной, который представлен плесневыми быстрорастущими грибами рода *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*. Грибные агенты-биодеструкторы питаются древесиной, в результате чего строение теряет прочность: на древесине образуются глубокие трещины, ямки или вмятины, дерево распадается на части и волокна. В качестве причин поражения грибами древесины каркасно-щитового дома из сосны обыкновенной выделены следующие: нарушения в пропитке дерева, плохая циркуляция воздуха внутри строения, контрастность условий влажности и температуры в зимне-весенний период.

Список литературы.

1. Синцов К.Н. и др. Микромицеты лигниновых шламотвалов // Экология и здоровье человека: материалы XVIII Всероссийского конгресса (8-10 октября 2013 г.). – Самара, 2013. – С. 1961-1964.
2. Змитрович И.В. и др. Эволюционно-таксономические аспекты поиска и изучения лигнинразрушающих грибов – активных продуцентов окислительных ферментов // Микология и фитопатология. – 2007. – Т. 41, вып. 1. – С. 57-78.
3. РВСН 20-01-2006 Региональные временные строительные нормы. Защита строительных конструкций, зданий и сооружений от агрессивных химических и биологических воздействий окружающей среды. – СПб.: Правительство Санкт-Петербурга, 2006. – 55 с.
4. Серова Т.А., Титова Ю.А. Микобиота древесины исторических памятников архитектуры Санкт-Петербурга и возможности ее контроля с помощью фунгицидов // Вестник защиты растений. 2014. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/mikobiota-drevesiny-istoricheskikh-pamyatnikov-arhitektury-sankt-peterburga-i-vozmozhnosti-ee-kontrolya-s-pomoschyu-fungitsidov> (дата обращения: 29.03.2024).
5. [5] Арефьев С.П. Системный анализ биоты дереворазрушающих грибов – Новосибирск: Наука, 2010. – 261 с.

СПОСОБНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КНИГОХРАНИЛИЩ,
РАСТИ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Мамаева Н.Ю.¹, Великова Т.Д.¹, Дегтярева А.В.²

¹Российская национальная библиотека, Санкт-Петербург,

²Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины

В фондах библиотек, архивов и музеев встречаются различные виды микроорганизмов — бактерии, дрожжи, микроскопические грибы как в воздухе, так и на различных поверхностях. Наиболее опасными для документов являются микромицеты, которые активно продуцируют такие ферменты как протеазы, амилазы, целлюлазы, разрушающие бумагу, кожу, пергамен, переплетные материалы. Более 90 видов микромицетов образуют пигменты при развитии на бумаге [1]. Сорок исторических пергаментов были исследованы в разных учреждениях, двенадцать из которых были повреждены микроорганизмами, при этом произошло видимого изменения цвета пергамента. Обнаруженными грибами были *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium funiculosum* и *Trichoderma viride* [2]. Роды *Cladosporium*, *Penicillium* и *Aspergillus* преобладали в воздухе и на поверхности книг во всех библиотеках [3, 4, 5]. Из 26 видов мицелиальных грибов, обнаруженных в кубинских архивах, пять были обнаружены как в воздухе, так и на документах: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium chrysogenum* [6].

Учитывая опасность микромицетов для книг и персонала, для их инактивации используются различные методы, включая биоциды, ультрафиолетовое и гамма-излучение.

В данной работе изучали влияние кислотности среды, света, ультрафиолетового излучения на рост микромицетов, изолированных из книгохранилищ, а также активность выделения углекислого газа при росте грибов на бумаге без дополнительного источника углерода и в присутствии пыли, собранной в хранилищах.

Из книгохранилищ отбирали пробы воздуха аспирационным и седиментационным методами на среды Чапека-Докса и DG-18 (дихлоран-глицериновый агар), с поверхности документов пробы отбирали методом отпечатков, пробы пыли отбирали с полок стеллажей и далее рассеивали методом разведений. Культивирование микромицетов проводили на чашках Петри в термостате при 29±1°C.

Выделено 15 видов микромицетов, принадлежащих к девяти родам: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, в том числе из воздуха – восемь видов, с документов – пять видов, из пыли – десять видов (таблица).

Для исследования были выбраны три микромицета, встречающиеся одновременно в воздухе, пыли и на документах: *Aspergillus niger*, *Penicillium aurantiogriseum* и *Penicillium chrysogenum*.

Оценивали развитие микромицетов на твердой и в жидкой среде Чапека-Докса при разных значениях pH. pH питательной среды регулировали добавлением растворов KOH и HCl до значений от 3 до 9.

Твердую агаризованную среду заражали микромицетами, внося посевной материал иглой в центр чашки Петри. Жидкую питательную среду разливали в пробирки по 10 мл и заражали 0,2 мл суспензии спор микромицетов с концентрацией 100 000 спор/мл. Культивирование проводили в термостате при 28±1°C.

Табл. 1. Микромицеты, выделенные из книгохранилищ

Микромицеты	Воздух	Пыль	Документы
<i>Acremonium strictum</i>	+	-	-
<i>Alternaria alternata</i>	+	-	-
<i>Aspergillus candidus</i>	-	+	-
<i>Aspergillus niger</i>	+	+	+
<i>Chaetomium</i> sp.	-	+	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	+	-	-
<i>Cladosporium herbarum</i>	-	+	-
<i>Mucor plumbeus</i>	-	+	-
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	+	+	+
<i>Penicillium chrysogenum</i>	+	+	+
<i>Penicillium commune</i>	-	+	+
<i>Penicillium frequentans</i>	+	-	-
<i>Rhizopus nigricans</i>	-	+	-
<i>Trichoderma koningii</i>	-	+	-
<i>Trichoderma viride</i>	+	-	+

Скорость радиального роста на агаризованной среде определяли по диаметру колоний за определенный период времени, используя формулу:

$Kr = (d_2 - d_1) / (t_2 - t_1)$, где

Kr – скорость радиального роста, мм/сут;

d₁ и d₂ – диаметр колоний в течение определенного периода времени. колонии, мм;

t₁ и t₂ – начальный и конечный моменты измерения времени, соответственно, сутки.

Развитие микромицетов оценивали по скорости роста, интенсивности спорообразования, пигментации питательной среды.

На твердой и в жидкой среде Чапека-Докса со значениями pH от 3 до 9 росли все изученные микромицеты с различной интенсивностью.

При развитии на твердой питательной среде наиболее активным был *A. niger*: скорость роста через три дня при pH от 3 до 4 составляла 5-6 мм/сут, при pH от 5 до 9 – 7-12 мм/сут, дальнейший рост замедлялся на среде с pH от 3 до 5 до 1-2 мм/сут, при pH от 5 до 9 – 7-12 мм/сут, при pH от 8-9 до 7-10 мм/сут, а затем на 10-14-й день скорость роста резко снизилась до 0,5 мм/сут.

Размер колоний гриба *P. chrysogenum* в первые три дня на всех средах увеличивался со скоростью 3-4 мм/сут, затем на среде с pH 8 и pH 9 скорость роста оставалась на прежнем уровне, при pH 3-5 снижалась до 1 мм/сут.

Скорость роста колоний *P. aurantiogriseum* была наиболее равномерной в течение 14 дней: в первые три дня на всех средах она составляла в среднем 2-3,5 мм/сут, затем около 2 мм/сут.

Наибольший диаметр колоний на 14 день роста у *A. niger* был на средах с pH от 6 до 9 – 76 мм, у *P. chrysogenum* при pH 8-9 — 49 мм, у *P. aurantiogriseum* при pH 6 – 47 мм.

Рост микромицетов в жидкой питательной среде с pH от 3 до 9 выявлялся преимущественно на пятые сутки. Развитие грибов отмечали как в глубине, так и на по-

верхности жидкой питательной среды. *A. niger* активно рос и спороносил на среде с pH от 3 до 6, менее интенсивно — на среде с pH от 7 до 9. *P. aurantiogriseum* развивался умеренно и равномерно при всех значениях кислотности жидкой среды. При росте *P. aurantiogriseum* в жидкой среде с pH 8 и 9 наблюдали светло-желтое окрашивание среды. У *P. chrysogenum* при всех значениях pH, кроме 5 и 6, рост и спороношение были незначительными. Изменение цвета среды до бледно-желтого было отмечено при росте в среде со значениями pH 8 и 9.

Согласно стандартам книги, журналы, карты, архивные дела должны храниться в темноте. Часть фонда может находиться в открытом доступе для читателей и храниться в условиях освещенности искусственным или естественным светом. С целью определения влияния света на рост грибов, изолированных из книгохранилищ, сравнивали их развитие в темноте и на свету.

Среду Чапека-Докса заражали микромицетами, внося посевной материал иглой в центр чашки Петри. Выращивание проводили при комнатной температуре, размещая одну группу чашек Петри поместив на свету, а другую — в темноте.

При отсутствии света у *A. niger* наблюдали интенсивное спорообразование, большой диаметр колонии 17-19 мм, кроме того, в среду выделялся светло-желтый пигмент. На свету спороношение было незначительным, диаметр колонии составлял 5-7 мм, пигментация отсутствовала.

В темноте и на свету *P. chrysogenum* имел одинаковую скорость роста, но в темноте наблюдали интенсивное спороношение оливкового цвета и образование ярко-желтого пигмента, окрашивавшего питательную среду. На свету спороношение охристого цвета было незначительным, отмечена бледно-желтая пигментация среды.

У *P. aurantiogriseum* в темноте наблюдали более интенсивное спорообразование и большую площадь колонии, чем при развитии на свету, а также окрашивание среды в светло-желтый цвет. На свету спорообразование было незначительным, выделение пигмента в среду отсутствовало.

Следовательно, у всех грибов как скорость роста, так и пигментация были значительно выше при отсутствии света, что означает, что в условиях высокой влажности, то есть в условиях, благоприятных для роста грибов, возможен их рост и пигментация бумаги документов.

Для изучения влияния ультрафиолетового излучения на рост микромицетов их споры помещали на питательную среду Чапека-Докса, внося иглой в центр чашки Петри, затем чашку помещали под бактерицидную лампу. Облучение проводили сильным ультрафиолетовым светом в течение нескольких часов, пока не была достигнута индивидуальная летальная доза для каждого вида. После облучения чашки помещали в термостат и выращивали при температуре $28 \pm 1^\circ\text{C}$. Контролем служили чашки с необлученными грибами. Диаметр колоний измеряли на 4, 7, 10 и 14 сутки и сравнивали с контролем.

После одного часа облучения (2000 МВт/м^2) все грибы были жизнеспособны.

Облучение в течение двух часов (3500 МВт/м^2) показало, что все микромицеты остались жизнеспособны, но отличались скоростью роста. На 14 сутки активность роста происходила в следующей последовательности (по мере ее уменьшения): *A. niger*, *P. chrysogenum*, *P. aurantiogriseum*.

После облучения в течение трех часов (5000 МВт/м^2) у всех грибов на 14 сутки культивирования развития колоний не наблюдали.

Пыль книгохранилищ является одним из основных источников микроорганизмов, которые могут повредить библиотечные материалы. Пыль содержит микроэлементы и органические вещества, способствующие их росту. При размножении микромицетов на бумаге разрушаются волокна целлюлозы, что приводит к значительной потере массы и потере прочности бумаги. Конечным продуктом разложения целлюлозы грибами является диоксид углерода. Оценивали активность выделения углекислого газа при росте грибов на бумаге без дополнительного источника углерода, а также в присутствии пыли.

Образцы чистой фильтровальной бумаги и фильтровальной бумаги с пылью заражали грибами, *P. chrysogenum*, *P. aurantiogriseum*, культивировали в герметично закрытых пенициллиновых флаконах при температуре $28 \pm 1^\circ\text{C}$.

При культивировании грибов в течение 4 недель на бумаге без пыли количество углекислого газа, выделенного *A. niger* и *P. chrysogenum* не превышало 1,0-1,2 %, а *P. aurantiogriseum* оно составило составляло 1,7 %.

При культивировании в присутствии пыли, собранной в хранилищах, рост был более активным, концентрация выделившегося CO_2 значительно выше для всех грибов: у *A. niger* 3,8 %, у *P. chrysogenum* 4,3%, у *P. aurantiogriseum* достигала 5 %.

Микроорганизмы в присутствии пыли развивались гораздо активнее, максимальная концентрация выделяемого углекислого газа достигла 5%.

Таким образом, микромицеты *A. niger*, *P. chrysogenum* и *P. aurantiogriseum*, часто встречающиеся в воздухе, пыли и на документах в книгохранилищах, способны расти на средах в широком диапазоне значений pH. Скорость их роста и пигментация ими среды значительно выше при выращивании в отсутствии света. Грибы чрезвычайно выносливы в экстремальных условиях — при облучении ультрафиолетовым светом. Содержащиеся в пыли минеральные микроэлементы и питательные вещества вызывают активный рост исследованных микромицетов на бумаге.

Список литературы

1. Нюкша Ю.П. Биоповреждение бумаги и книг. СПб, 1994. 232 с.
2. Farag R., Gad H., Ghazi S. Microbiological Deterioration Survey of Historical Parchment in Different Institutions, 2018. DOI: 10.21608/ijmsac.2018.181900
3. Chadeganipour M., Ojaghi R., Rafiei H., Afshar M., Hashemi S.T. Bio-Deterioration of Library Materials: Study of Fungi Threatening Printed Materials of Libraries in Isfahan University of Medical Sciences in 2011 / Jundishapur Journal of Microbiology, 2013. Vol. 6, No. 2. PP.127-131. DOI: 10.5812/jjm.4751.
4. Pyrris I., Tripyla E., Zalachori A., Chrysopoulou M. Fungal contaminants of indoor air in the National Library of Greece / Aristeidis Parmakelis & Evangelia Kapsanaki-Gotsi. Aerobiologia, 2020. Vol. 36. PP. 387–400. DOI:10.1007/s10453-020-09640-0
5. Borrego S., Perdomo I. Airborne microorganisms cultivable on naturally ventilated document repositories of the National Archive of Cuba / Environ Sci Pollut Res Int., 2016. Vol. 23, No. 4. PP. 3747-3757. DOI: 10.1007/s11356-015-5585-1.
6. Matilde A., Borrego S. F., Gámez E., Castro M., Molina A., Valdés O. Viable fungi in the air of indoor environments of the National Archive of the Republic of Cuba / Aerobiologia, 2016. Vol. 32. PP. 513–527.

ПОРЯДОК ERYSIPTHALES, КАК ФИТОПАТОГЕНЫ РАСТИТЕЛЬНОСТИ В ПАРКАХ Г. ВОЛГОГРАДА

Михалев В.М.

Волгоградский государственный социально-педагогический университет

Эризифовые (*Erysiphales*) - порядок сумчатых грибов (*Ascomycota*). В составе единственного семейства *Erysiphaceae* выделяют 19 родов и свыше 700 видов. Все представители - облигатные паразиты, зарегистрированные на около 9800 видах покрытосеменных растений. Представители этой группы поражают в основном двудольные растения. Исключение - паразитирующие на однодольных *Blumeria graminis* и *Leveillula allii*. [2]

Продолжительное время представителям данного порядка уделяется мало внимания. На сегодняшний день, в связи с новыми методами молекулярного анализа ДНК, в систематике порядка произошли серьезные изменения. Кроме того, данные по систематике этой группы долгое время не актуализировались, поэтому и возникла необходимость возобновить мониторинг.

Исследования проводились на территории парков г. Волгограда в течении 2 лет. Волгоград расположен в нижнем течении Волги на западном её берегу с разнообразными формами рельефа. Климат в городе умеренно-континентальный, засушливый. Зима мягкая, с частыми оттепелями, лето жаркое и долгое, во все времена года возможны резкие перепады температуры. Данные погодные условия можно считать идеальными для развития и распространения эризифовых грибов.

Образцы пораженных листьев отбирались преимущественно в конце вегетации, когда сформировались зрелые клейстотеции, что значительно облегчало процесс определения грибов-паразитов. При определении мучнисторосяных грибов опорой являлось несколько источников [1,3,4]. Актуальная номенклатура и синонимия видов устанавливалась с помощью электронных ресурсов [6].

Результаты исследований. На данный момент, поражение мучнистой росой было выявлено на 20 растениях, относящихся к разным семействам.

Наблюдения показали, что мучнистая роса в сильной степени поражает такие породы как лещина, сирень, различные клёны и барбарисы. На остальных видах признаки болезни были обнаружены более редко. Болезнь проявляется в виде белого налёта на листьях, стеблях, иногда плодах растений.

Полный список видов-возбудителей мучнистой росы и пораженных растений представлен ниже (Табл. 1).

Среди питающих растений обнаружено 6 деревьев, 8 кустарников и 4 травянистых растения. Стоит также отметить, что среди древесных и травянистых растений можно выделить своеобразные жизненные формы: лианы, эпифиты и растения-подушки [5]. Так, например, представителями жизненной формы «лианы» в нашем списке являются Виноград культурный и Жимолость каприфоль.

Среди мучнисторосяных грибов было обнаружено 16 представителей из 5 родов. Большинство выявленных грибов относится к роду *Erysiphe* - 12 видов. По 1 виду грибов относится к таким родам как *Golovinomyces*, *Phyllactinia*, *Podosphaera* и *Sawadaea*. Однако, полученные данные не могут считаться окончательным, т.к. некоторые виды могли быть не обнаружены из-за недостаточного времени обследования данной территории, а также отсутствия в период изучения подходящих для развития некоторых видов условий.

Выводы. На данный момент, на территории г. Волгограда обнаружено 16 представителей *Erysiphales*, которые паразитируют и являются возбудителями мучнистой росы на 20 видах растений, среди которых имеются 2 представителя своеобразной жизненной формы «лианы».

Большинство выявленных грибов относится к роду *Erysiphe* - 12 видов. По 1 виду грибов относится к таким родам как *Golovinomyces*, *Phyllactinia*, *Podosphaera* и *Sawadaea*.

В ходе мониторинга установлено, что мучнистая роса в сильной степени поражает лещину, сирень, различные клёны и барбарисы.

Список литературы

1. Гелюта В. П. Мучнисторосяные грибы Отв. ред. И. А. Дудка, АН УССР. Ин-т ботаники им. Н. Г. Холодного. - Киев : Наук. Думка, 1980. - 256 с.
2. Яковлева Н.П. Фитопатология Программированное обучение – Москва.: Колос 1992
3. Ячевский А. А. Карманный определитель грибов. -Л.: Микол. лаборатория им. проф. А. А. Ячевского, гос. ин-та опыт. Агрономии. - Вып. 2: Мучнисто-росяные грибы, 1927. - 626 с.
4. Braun, U. & Cook, R.T.A. 2012 Taxonomic Manual of the *Erysiphales* (Powdery Mildews)
5. <https://istina.msu.ru/download/19489951>
6. Species Fungorum [Электронный ресурс] URL: <https://indexfungorum.org>

Табл. 1. Видовой состав грибов *Erysiphales*, поражающих растения парков г. Волгограда.

Возбудитель	Растение	Возбудитель	Растение
<i>Blumeria graminis</i> (DC.) Speer (= <i>Erysiphe graminis</i> DC.)	Мятлик <i>Poa</i> sp. (Сем. Мятликовые <i>Poaceae</i>)	<i>Erysiphe polygoni</i> DC. (= <i>Microsphaera polygoni</i> (DC.) Sawada)	Горец птичий <i>Polygonum aviculare</i> (Сем. Гречишные <i>Polygonaceae</i>)
<i>Erysiphe aquilegiae</i> DC. (= <i>Erysiphe aquilegiae</i> var. <i>ranunculi</i> (Grev.) R.Y. Zheng & G.Q. Chen)	Аквилегия <i>Aquilegia</i> sp. (Сем. Лютиковые <i>Ranunculaceae</i>)	<i>Erysiphe syringae</i> Schwein. (= <i>Microsphaera syringae</i> (Schwein.) H. Magn.)	Сирень обыкновенная <i>Syringa vulgaris</i> L. (Сем. Маслиновые <i>Oleaceae</i>)
<i>Erysiphe alphitoides</i> (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam. (= <i>Microsphaera alphitoides</i> Griffon & Maubl.)	Дуб черешчатый <i>Quercus robur</i> L. (Сем. Буковые <i>Fagaceae</i>)		Бирючина обыкновенная <i>Ligustrum vulgare</i> L. (Сем. Маслиновые <i>Oleaceae</i>)
<i>Erysiphe berberidis</i> DC. (= <i>Microsphaera berberidis</i> (DC.) Cooke)	Барбарис обыкновенный <i>Berberis vulgaris</i> L. (Сем. Барбарисовые <i>Berberidaceae</i>)	<i>Erysiphe ulmi</i> Castagne (= <i>Uncinula clandestina</i> f. <i>ulmi-foliaceae</i> Dzshaf.)	Вяз мелколистный <i>Ulmus parvifolia</i> Jacq. (Сем. Вязовые или Ильмовые <i>Ulmaceae</i>)
	Барбарис тунберга <i>Berberis thunbergii</i> DC. (Сем. Барбарисовые <i>Berberidaceae</i>)	<i>Golovinomyces sordidus</i> (L. Junell) V.P. Heluta (= <i>Erysiphe artemisiae</i> var. <i>sordida</i> (L. Junell) Ialongo)	Подорожник большой <i>Plantago major</i> (Сем. Подорожниковые <i>Plantaginaceae</i>)
<i>Erysiphe convolvuli</i> DC. (= <i>Alphitomorpha communis</i> var. <i>convolvulacearum</i> Wallr.)	Вьюнок полевой <i>Convolvulus arvensis</i> (Сем. Вьюнковые <i>Convolvulaceae</i>)	<i>Phyllactinia guttata</i> (Wallr.) Lév. (= <i>Phyllactinia suffulta</i> (Rebent.) Sacc.)	Лещина обыкновенная <i>Corylus avellana</i> (L.) H.Karst. (Сем. Берёзовые <i>Betulaceae</i>)
<i>Erysiphe corylacearum</i> U. Braun & S. Takam. (= <i>Erysiphe hommae</i> (U. Braun) U. Braun & S. Takam.)	Лещина обыкновенная <i>Corylus avellana</i> (L.) H.Karst. (Сем. Берёзовые <i>Betulaceae</i>)	<i>Podosphaera pannosa</i> (Wallr.) de Bary (= <i>Alphitomorpha pannosa</i> Wallr.)	Роза собачья <i>Rosa canina</i> L. (Сем. Розоцветные <i>Rosaceae</i>)
<i>Erysiphe lonicerae</i> DC. (= <i>Microsphaera lonicerae</i> (DC.) G. Winter)	Жимолость татарская <i>Lonicera tatarica</i> L. (Сем. Жимолостные <i>Caprifoliaceae</i>)	<i>Sawadaea tulasnei</i> (Fuckel) Homma (= <i>Uncinula tulasnei</i> Fuckel)	Клён американский <i>Acer negundo</i> L. (Сем. Сапиндовые <i>Sapindaceae</i>)
	Жимолость каприфоль <i>Lonicera caprifolium</i> L. (Сем. Жимолостные <i>Caprifoliaceae</i>)		Клён татарский <i>Aser tataricum</i> L. (Сем. Сапиндовые <i>Sapindaceae</i>)
<i>Erysiphe necator</i> Schwein. (= <i>Uncinula necator</i> (Schwein.) Burrill)	Виноград культурный <i>Vitis vinifera</i> L. (Сем. Виноградовые <i>Vitaceae</i>)		

МИКОЛОГИЧЕСКИЕ КОНСОРТНЫЕ АССОЦИАЦИИ ОСНОВНЫХ ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД КАК ФАКТОР ПОДДЕРЖАНИЯ СУКЦЕССИОННЫХ ТРАНСФОРМАЦИЙ ФИТОЦЕНОЗОВ

Некляев С.Э., Ларина Г.Е., Серая Л.Г.
ВНИИ фитопатологии, Большие Вяземы

Введение. Процесс трансформации дендрофитоценозов происходит при активном участии микологических консортных ассоциаций основных древесных пород насаждений [1]. Смену сукцессий старовозрастных насаждений можно проследить по изменению поселения на субстрате доминантных видов грибов, оказывающих воздействие на проводящие ткани деревьев, в первую очередь на древесину. Состав консортных ассоциаций определяется освоением питательного субстрата дереворазрушающими грибами, среди которых основная роль принадлежит афиллофоровым ксило- и сапроксилотрофным макромицетам [1]. При изучении микологических консортных ассоциаций наибольшее значение имеет определение видового состава экологических групп, участвующих в разрушении древесины, в частности: биотрофов, ксилотрофов, сапроксилотрофов, сапроксилотрофов-гумификаторов [2].

Методы и объекты. Для изучения процесса биодеструкции в период 2014-2023 гг. было проведено исследование 708 модельных старовозрастных деревьев дуба, березы, ели и сосны в лесопарковых насаждениях и зеленых зонах населенных пунктов на территории г. Москвы, Московской, Рязанской и Владимирской областях. Для каждого модельного дерева проводили замеры влажности древесины (ГОСТ 18610-82), а также отбор образцов древесины для определения стадии и типа разложения древесины, особенностей развития мицелия. В отобранных образцах замеряли объем гнили. Проведена идентификация видовой принадлежности дереворазрушающих грибов (ДРГ) по морфологическому строению с использованием специализированных определителей [3-6].

Результаты и обсуждение. Анализ видового разнообразия микологических консортных ассоциаций на основных породах показывает, что группа микромицетов, развивающихся на фотосинтезирующих органах, разительно отличается между лиственными и хвойными породами. Если на хвойных породах количество видов ограничено: на хвое ели – 8, на хвое сосны – 11, то на лиственных породах количество видов увеличивается вдвое. При этом полное усыхание регистрируется только для молодых деревьев IV-V класса Крафта.

В дендроценозе ДРГ занимают значительное место как в вертикальной, так и горизонтальной структуре насаждения. В вертикальной структуре доминируют виды биотрофов способных поселяться на живых деревьях. Состав групп биотрофов на лиственных породах и хвойных отличается, хотя представители родов *Armillaria*, *Phellinus* способны развиваться на всех породах. Представители родов *Flammulina*, *Fomes*, *Inonotus*, *Laetiporus*, *Polyporus* формируют мицелий и на дубе, и на березе. Только биотрофы рода *Perenniporia* поселяются на дубе, а *Piptoporus* – на березе. Общим для ассоциаций биотрофов ели и сосны являются рода *Heterobasidion*, *Phaeolus*, *Stereum*, только виды рода *Climacocystis* предпочитают исключительно ель. Развитие данных грибов приводит к ослаблению и необратимому усыханию деревьев, утрачивающих механизмы физиологической защиты. Представители биотрофов практически все способны продолжать свою деятельность на усохших деревьях еще в течении нескольких лет.

В группе ксилотрофов отмечаются широкие политрофы. По результатам анализа данных модельных

деревьев к ним можно отнести представителей родов *Bjerkandera*, *Fomitopsis*, *Phellinus*, что может говорить о высокой энзимной активности грибов, позволяющей им питаться различной по своему морфологическому строению и химическому составу древесиной. На лиственных породах можно также выделить грибы предпочитающие именно данные породы, в частности представители родов *Inonotus*, *Oxyporus*, *Pleurotus*. Представители рода *Fistulina* предпочитают дуб, а *Lenzites* – березу. Схожие тенденции выявлены и в ассоциациях ксилотрофов хвойных пород. Так грибы родов *Dichomitus*, *Gloeophyllum*, *Stereum*, *Trichaptum* регистрировались на модельных деревьях обеих пород. Рода *Onnia* и *Rhodofomes* приурочены к еловой древесине, а представители рода *Ischnoderma* к сосне. Активность данной группы позволяет изменить химический состав древесины и подготовить субстрат к поселению следующих групп.

В группе сапроксилотрофов различия видового состава наиболее значительны, только представители трех родов *Antrodia*, *Ganoderma* и *Sceletocutis* способны развиваться на всех породах, однако виды, входящие в их состав, более специализированы на определенной породе или роде древесных растений. Для ассоциаций лиственных пород общими являются рода *Antrodiella*, *Cerrena*, *Datronia*, *Trametes* и *Stereum*. Причем последний на хвойных породах проявляет себя как био- и ксилотроф. К специфическим родам зарегистрированным в ассоциации сапроксилотрофов дуба относятся *Daedalea*, *Gloeoporus*, *Hapalopilus*, *Hymenochaete*, *Inonotus*, *Irpex*, *Phlebiopsis*. Для березы – *Daedaleopsis*, *Hirschioporus*, *Hymenochaete*, *Phellinus*. Для ассоциаций хвойных пород общими родами выступают *Coniophora*, *Fuscopostia*, *Neoantrodia*, *Oligoporus*, *Phlebiopsis*, *Rhodonina*, *Sceletocutis*, которые составляют большую часть видового разнообразия ассоциаций. Представители данных родов способны развивать мицелий как по коррозионному, так и по деструктивному типу. К специфическим сапроксилотрофов ассоциации ели необходимо отнести представителей родов *Leucogyrophana* и *Russoporellus*, а на сосне – *Incrustoporia*, *Plilebia*, *Onnia*, *Rigidoporus*.

Анализ хода ксилолиза показал, что смена групп в ассоциации происходит нелинейно и имеет признаки динамической модели, зависящей как от изменения факторов внешней среды, таких как увлажнение, проникновение теплового излучения, так и от перфорации древесины сапроксильными насекомыми, естественного растрескивания древесины, изменения химического состава древесины и ее pH. Таким образом, представители консортных ассоциаций последовательно выводят из состава насаждения ослабленные и отмирающие деревья, а затем возвращают в кругооборот веществ их древесину.

На завершающем этапе ксилолиза ведущая роль переходит к агарикоидным базидиомицетам. Наиболее широко представлены в группе сапроксилотрофов-гумификаторов представители родов *Coprinellus*, *Mycena*, *Pholiota*, *Hypholoma*. При этом на лиственных породах также зарегистрированы представители родов *Coprinus*, *Pluteus*, *Coprinellus*. На завершающих стадиях на породах массово регистрировался *Lycogala epidendrum* (L.) Fr.

Корреляционный анализ доли субстрата, занимаемой мицелием дереворазрушающих грибов, выявил

наличие связей как внутри отдельных групп, так и между группами. Так между поселением представителями биотрофов и грибами ксилотрофов корреляция составляет $r=0,7-0,99$, $P \leq 0,05$. Между ксилотрофами и сапроксилотрофами корреляция зависимости поселения составила $r=0,76-0,97$, $P \leq 0,05$. Внутри группы сапроксилотрофов все виды показывают корреляционные связи между друг другом $r=0,71-0,99$, $P \leq 0,05$, что свидетельствует о высокой интерференции между видами данных групп на ограниченном ресурсе субстрата.

Выявленные зависимости показывают более широкое разнообразие видов ксилотрофов, имеющих связь с последующим поселением сапроксилотрофов, что указывает на более сложные и разнонаправленные химические и генетические взаимодействия между ними, что требует дальнейшего изучения. Зависимостей развития сапроксилотрофов-гуммификаторов с другими группами установить не удалось из-за значительного временного интервала между прекращением плодоношения сапроксилотрофов и образованием плодовых тел агариоидными базидиомицетами на гумифицированной древесине. Для дальнейшего изучения данных взаимосвязей требуется постановка опыта с искусственным ускорением хода ксилолиза.

Заключение. Микологические консортные ассоциации являются неотъемлемой частью комплексной динамической системы сукцессионных изменений в дендроценозах под действием ДРГ, ассоциированными

с древесиной как питательным субстратом. На стадиях сукцессионных изменений принимают участие определенные таксоны, что характеризует последовательную сменяемость сукцессионных рядов грибов, входящих в микологические консортные ассоциации, в ходе изменения качественных характеристик субстрата.

Список литературы

1. Стороженко В.Г. Гнилевые фауны коренных лесов Русской равнины. М.: Изд-во ВНИИЛМ, 2002. 156 с.
2. Селочник Н.Н. Микобиота дубравных биогеоценозов южной лесостепи. Грибные сообщества лесных экосистем. М.; Петрозаводск, 2004. Т. 2. С. 177-196.
3. Ниемеля Т. Трутовые грибы Финляндии и прилегающей территории России. *Norrlinia* 8, 2001, 120 с.
4. 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.
5. Zabel R.A., Morrell J.J., Robinson S. Wood Microbiology. Decay and Its Prevention. London: Elsevier Academic Press, 2020; 556 p.
6. Переведенцева Л.Г. Определитель грибов (агарикоидные базидиомицеты). М.: Товарищество научных изданий КМК, 2015; 119 с.

МИКОБИОТА ПОЧВ И КРИОКОНИТОВ ЗЕМЛИ ФРАНЦА-ИОСИФА И ПОЛЯРНОГО УРАЛА

Никитин Д.А.^{1,2}, Яковлева С.А.³, Лысак Л.В.³, Мергелов Н.С.²,

Долгих А.В.³, Зазовская Э.П.^{2,4}, Добрянский А.С.², Горячкин С.В.²

¹ Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва

² Институт географии РАН, Москва

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

⁴ University of Georgia, Athens, GA, USA

В последние годы ускоряется потепление климата в Арктике (Rantanen et al., 2021), что приводит к таянию многолетнемерзлых пород и ледников (Мергелов и др., 2023). При этом высвобождаются значительные запасы органического вещества (ОВ), которое способно минерализоваться и увеличить эмиссию парниковых газов из-за активизации деятельности микроорганизмов, в первую очередь грибов, основных деструкторов ОВ (Мергелов и др., 2023; Зазовская и др., 2022). Таксономический состав прокариот и эукариот (микобиоты) активно изучается (Singh, Singh, 2012; Никитин, Семенов, 2022; Nikitin et al., 2024; Pittino et al., 2018; Kaczmarek et al., 2016; Семенова и др., 2021). Однако мало сведений об активности и структуре микробной биомассы (Kaczmarek et al., 2016), от которых в значительной степени зависит скорость минерализации ОВ. Основное внимание большинства работ сфокусировано на изучении почвы, поскольку она - основа существования наземных экосистем, а населяющие ее грибы играют ключевую роль в цикле углерода. Вне поля зрения исследований, проводимых в Арктике, оставались супрагляциальные почвоподобные тела - криокониты, формирующиеся на поверхности ледников - локусы аккумуляции структурированного органо-минерального материала (Мергелов и др., 2023).

Цель работы - исследование структуры биомассы грибов прямыми, молекулярно-биологическими и классическими микробиологическими методами в почвах и криоконитах Земли Франца-Иосифа (ЗФИ) и Полярного Урала (ПУ).

Структуру биомассы характеризовали методом люминесцентной микроскопии с флуоресцентным красителем калькофлуором белым на микроскопе «Биомед 5 ПР ЛЮМ». Микробиологический посев осуществляли на среду Чапека. Тотальную ДНК из субстратов выделяли с использованием набора DNeasy PowerSoil ProKit (Qiagen, Германия). Оценку численности рибосомальных генов (регион ITS) проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad).

Биомасса грибов ЗФИ составляла от 0.020 мг/г субстрата (минеральные надмерзлотные горизонты почв и криокониты с минимумом ОВ) до 0.883 мг/г в поверхностных горизонтах почвы, а также в криоконитах с обилием ОВ. Доля мицелия варьировала от 12 до 80%, в большинстве образцов составляла от 53 до 65%. Длина гиф изменялась от 5.95 до 459.71 м в г субстрата. 37% образцов содержали десятки метров мицелия, а 35% проб - сотни метров мицелия в 1 г. Численность спор

диаметром от 2 до 5 мкм составляла 104-105 клеток/г субстрата, преобладали (79-100%) мелкие формы спор.

Биомасса грибов ПУ варьировала от 0.041 мг/г субстрата в криоконите с крупноземом из периферии супрагляциальной зоны до 0.323 мг/г субстрата в переотложенном дисперсном криоконите струйчатой формы вдоль трещины супрагляциальной зоны. Доля мицелия изменялась от 20 до 65%. Длина мицелия составляла от 6.33 до 120.23 м/г субстрата. Большинство (63%) образцов содержало десятки метров мицелия. В 2-х образцах из периферии супрагляциальной зоны гифы не выявлены. Количество спор составляло 104 -105 /г субстрата. Преобладали (93-100%) мелкие формы диаметром 2-3 мкм.

Численность ITS рРНК ЗФИ изменялась от 4.62×10^4 копий гена/г субстрата в надмерзлотных горизонтах до 2.96×10^{10} копий гена/г субстрата в поверхностном горизонте мохового охеса (рис. 1). Для большинства образцов количество генетического материала грибов варьировало в пределах 10^5 - 10^8 копий генов/г субстрата.

Количество ITS рРНК ПУ составляло от 2.21×10^4 копий гена/г в грубом переотложенном материале из супрагляциальной зоны до 3.32×10^8 в переотложенном дисперсном криоконите струйчатой формы вдоль трещины в супрагляциальной зоны. Для большинства объектов ПУ количество генетического материала грибов варьировало в пределах 10^7 - 10^9 копий генов/г субстрата.

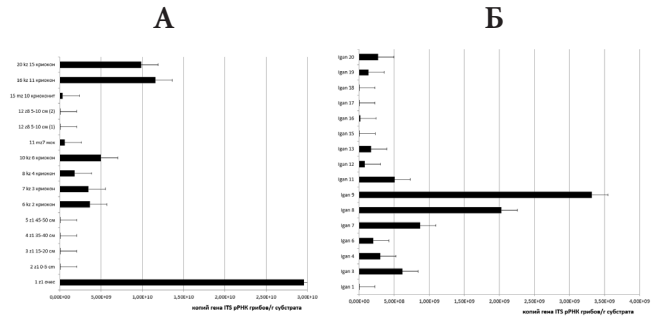


Рис. 1. Численность копий генов ITS рРНК грибов: А – ЗФИ; Б – ПУ.

Численность микромицетов ЗФИ составляла от 5.0×10^2 КОЕ/г почвы в минеральных надмерзлотных горизонтах почв и супрагляциальных тел с низким содержанием ОВ до 4.2×10^3 КОЕ/г почвы в поверхностных органогенных горизонтах и криоконитах с обилием ОВ (рис. 2). Сапротрофные микромицеты выявлены из всех образцов ЗФИ и представлены, как типичными почвенными родами – *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Geomyces*, *Mortierella*, *Mucor*, *Penicillium*, *Phoma*, *Thelebolus*, *Umbelopsis*, так и родами характерными для холодных экосистем – *Antarctomyces*, *Cadophora*, *Glaciozyma*, *Goffeauzyma*, *Hyphozyma*, *Leucosporidium*, *Mrakia*, *Phenolipharia*, *Thelebolus*. 17% видов (*Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Geomyces pannorum*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium verrucosum*, *Phoma glomerata*) входят в базу данных BSL патогенных для человека и животных видов. Среди микромицетов, выделенных из образцов ЗФИ было мало видов приуроченных к растениям (эпифиты, эндофиты, эккрисотрофы) – *Aureobasidium pullulans*, *Epicoccum nigrum*. Однако 22% видов являлись целлюлолитиками и фитопатогенами – *Cadophora luteo-olivacea*, *Cadophora*

malorum, *Cladosporium cladosporioides*, *Leptosphaeria coniothyrium*, *Phoma glomerata*, *Phoma herbarum*, *Pochonia bulbilosa*, *Sarocladium kiliense*. Наибольшее видовое разнообразие у родов *Penicillium* (5 видов), *Cadophora*, *Geomyces*, *Mortierella*, *Phoma* и *Phialophora* (по 2 вида). По численности (от 5.6×10^2 до 2.0×10^3 КОЕ/г почвы) и обилию (от 35 до 93%) доминировали сапротрофы и характерные для холодных экосистем виды – *Goffeauzyma gilvescens*, *Geomyces pannorum*, *Hyphozyma variabilis* и *Thelebolus microsporus*. Субдоминантами по численности (от 4.5×10^2 до 5.6×10^3 КОЕ/г почвы) и обилию (от 15 до 35%) являлись *Antarctomyces psychrotrophicus*, *Geomyces vinaceus* и *Penicillium verrucosum*.

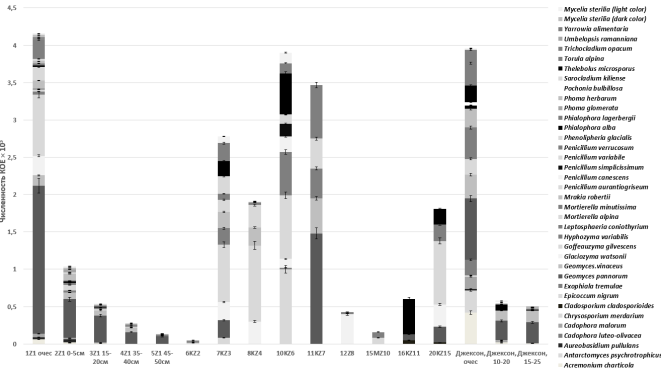


Рис. 2. Численность и таксономическое разнообразие микромицетов ЗФИ.

Численность микромицетов ПУ составляла от 1.0×10^1 КОЕ/г почвы для переотложенного и грубого криоконитового материала, формирующего конические формы с ледяным ядром до 1.5×10^4 КОЕ/г почвы в образцах криоконитов супрагляциальной зоны, в переотложенных струйчатых формах вдоль трещин (рис. 3). Сапротрофные микромицеты выявлены из всех образцов ПУ и представлены, как типичными почвенными родами – *Cladosporium*, *Geomyces*, *Penicillium*, *Phoma*, *Thelebolus*, *Umbelopsis*, так и родами характерными для холодных экосистем – *Cadophora*, *Glaciozyma*, *Goffeauzyma*, *Hyphozyma*, *Leucosporidium*, *Mrakia*, *Phenolipharia*, *Teberdinia*, *Thelebolus*, *Yarrowia*. 22% микромицетов входит в базу BSL патогенных для человека и животных видов – *Cladosporium cladosporioides*, *Geomyces pannorum*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium verrucosum*, *Phoma glomerata*. Среди выделенных микромицетов не было видов, экологически связанных с растениями – эпифитов, эндофитов или эккрисотрофов. Однако, 13% видов являлись целлюлолитиками и фитопатогенами – *Cadophora malorum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Phoma glomerata*. Наибольшим видовым разнообразием характеризовались роды *Penicillium* (4 вида), а также *Geomyces* и *Phoma* (по 2 вида). По численности (от 2.8×10^3 до 6.0×10^3 КОЕ/г почвы) и обилию (от 67 до 95%) доминировали представители характерных для холодных экосистем видов – *Geomyces pannorum*, *Geomyces vinaceus* *Teberdinia hygrophila*. Субдоминантами по численности (от 2.2×10^2 до 1.1×10^3 КОЕ/г почвы) и обилию (от 19 до 48%) являлись *Goffeauzyma gilvescens*, *Hyphozyma variabilis*, *Phenolipharia glacialis* и *Tolypocladium inflatum*.

Таким образом, длина мицелия, численность спор и биомасса грибов в криоконитах ниже на периферии, чем в центре супрагляциальной зоны. Грибная био-

масса, численность и таксономическое разнообразие микромицетов в почвах ЗФИ резко снижались вниз по профилю, однако в надмерзлотном горизонте отмечалось некоторое повышение биомассы грибов, что связано с накоплением ОВ и вымыванием спор на границу многолетнемерзлых пород (эффект ретинизации). Максимальная численность и разнообразие микромицетов отмечено в супрагляциальных объектах со свежим ОВ вне зависимости от зон ледника. Все проанализированные показатели криоконитов возрастают при переходе от супрагляциальной зоны к периферии перигляциальной зоны. Среди микромицетов обнаружено довольно много видов, входящих в базу данных BSL грибов, патогенных для человека и животных.

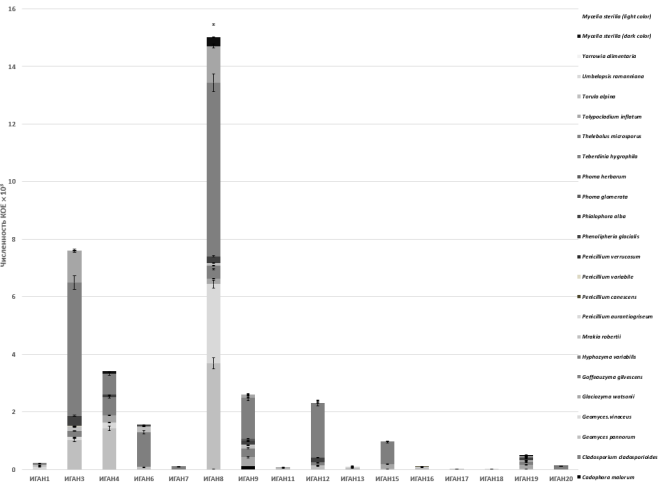


Рис. 3. Численность и таксономическое разнообразие микромицетов ПУ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 20-17-00212.

Список литературы

1. Rantanen M., Karpechko A., Lipponen A., Nordling K., Hyvärinen O., Ruosteenoja K., Laaksonen A. The Arctic has warmed four times faster than the globe since 1980. 2021/

2. Мергелов Н.С., Горячкин С.В., Зазовская Э.П., Карелин Д.В., Никитин Д.А., Кутузов С.С. Супрагляциальные почвы и почвоподобные тела: разнообразие, генезис, функционирование (обзор). Почвоведение. 2023. №12. С.1522-1561. DOI: 10.31857/S0032180X23601494

3. Зазовская Э.П., Мергелов Н.С., Шишков В.А., Долгих А.В., Добрянский А.С., Лебедева М.П., Турчинская С.М., Горячкин С.В. Криокониты как факторы развития почв в условиях быстрого отступления ледника Альдегонда, Западный Шпицберген. Почвоведение. 2022. №3. С.281–295. <https://doi.org/10.31857/S0032180X22030157>

4. Singh P., Singh S.M. Characterization of yeasts and filamentous fungi isolated from cryoconite holes of Svalbard, Arctic . Polar Biology. 2012. V.35. P.575–583. DOI: 10.1007/s00300-011-1103-1

5. Nikitin D.A., Lysak L.V., Zazovskaya E.P., Mergelov N.S., Goryachkin S.V. Microbiome of Supraglacial Systems on the Aldegonde and Bertil Glaciers (Svalbard) . Eurasian Soil Science. 2024. V.57(4). P.601–622. DOI: 10.1134/S1064229323603189

6. Никитин Д.А., Семенов М.В. Характеристика микробиоты почв Земли Франца-Иосифа методами микробиологического посева и ПЦР в реальном времени . Микробиология. 2022. №91(1). С.62-74. DOI: 10.31857/S0026365622010098

7. Семенова Е.М., Бабич Т.Л., Соколова Д.Ш., Добрянский А.С., Корзун А.В., Крюков Д.Р. Микробное разнообразие грунтов архипелага Земля Франца-Иосифа, загрязненных нефтепродуктами . Микробиология. 2021. №90(6). С.681-691.

8. Nikitin D.A., Manucharova N.A., Dobryansky A.S. Microbiome of Soils and Supraglacial Objects in Background and Oil-Polluted Ecosystems of Hayes Island, Franz Josef Land. Eurasian Soil Science. 2024. V.57(2). P.251–265. DOI 10.1134/S1064229323602767

9. Pittino F, Maglio M., Gandolfi I., Azzoni R.S., Diolaiuti G., Ambrosini R., Franzetti A. Bacterial communities of cryoconite holes of a temperate alpine glacier show both seasonal trends and year-to-year variability . Annals of Glaciology. 2018. V.59(77). P.1-9. DOI: 10.1017/aog.2018.16

10. Kaczmarek L., Jakubowska N., Celewicz-Goldyn S., Zawierucha K. The microorganisms of cryoconite holes (algae, Archaea, bacteria, cyanobacteria, fungi, and protista): a review . Polar Record. 2015. V.52(2). P.176-203. DOI: 10.1017/S0032247415000637.

ВЛИЯНИЕ СОЛОМЫ НА КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МИКОБИОТЫ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ И РИЗОСФЕРЫ В ПОЛУВЕКОВОМ ОПЫТЕ С РАЗНЫМИ СИСТЕМАМИ УДОБРЕНИЙ

Никитин Д.А.¹, Семенов М.В.¹, Ксенофонтова Н.А.¹,Тхакахова А.К.¹, Русакова И.В.², Лукин С.М.²
¹ Почвенный институт им. В.В.Докучаева, Москва
² ВНИИ органических удобрений и торфа- филиал Верхневолжского ФАНЦ, Вяткино

Минерализация органического вещества (ОВ) в ходе интенсивной распашки земель приводит к их деградации (Wu et al., 2019; Никитин и др., 2023). Одним из оптимальных способов увеличения запасов ОВ и уменьшения эмиссии углекислого газа из почв агроэкосистем является служит внесение соломы (Никитин и др., 2023), которое может влиять на биомассу почвенных грибов. Применение минеральных и органических удобрений – важный фактор интенсификации земледелия (Кудеяров, Семенов, 2014; Семенов и др., 2023), который обогащает почвы биофильными элементами, что может приводить к изменению численности и таксономической структуры почвенного микобиома (Семенов и др., 2023). В настоящее время по-прежнему существует

дефицит данных о влиянии совместного использования соломы и различных систем удобрения на распространение сообществ почвенных грибов. Целью исследования была оценка влияния соломы, а также минеральной, органической и органо-минеральной систем удобрения на численность генов грибов и структуру грибной биомассы во внекорневой и ризосферной дерново-подзолистой почве в условиях длительного полевого эксперимента. Исследования проводили с образцами агродерново-подзолистой супесчаной почвы (Umbric Retisol), отобранными в многолетнем (с 1997 г.) полевом опыте Всероссийского научно-исследовательского института органических удобрений и торфа (ВНИИОУ) – филиале

ФГБНУ «Верхневолжский ФАНЦ» в Судогодском районе Владимирской области (56°3'16" с.ш., 40°29'28" в.д.), в пятипольном зернопропашном севообороте: озимая пшеница, люпин, картофель, ячмень, однолетние травы (Лукин, 2018). Для обозначения вариантов эксперимента использовались следующие индексы: контроль без удобрений (V1 и V5); N54P51K57 (V2 и V6); N54P51K57 + солома озимой пшеницы, люпина, ячменя по 3 т/га (V3 и V7); солома озимой пшеницы, люпина, ячменя по 3 т/га (V4 и V8).

Другой длительный (с 1968 г.) полевой опыт имел севооборот: люпин – озимая пшеница – картофель – ячмень. Изучали варианты: 1) без удобрений, 2) минеральная система удобрения (N100P50K120), 3) органо-минеральная система удобрения (навоз 10 т/га + N50P25K60) и 4) органическая система удобрения (навоз 20 т/га). Для обозначения вариантов эксперимента использовали следующие индексы: W – ячмень, Р – картофель; ниши: В – почва, R – ризосфера; системы удобрений: N – без удобрений, М – минеральные удобрения, О – органические удобрения, Х – органо-минеральные удобрения; сроки отбора: 1 – июнь, 2 – август.

Структуру биомассы грибов характеризовали методом люминесцентной микроскопии с флуоресцентным красителем калькофлуор белый на микроскопе «Биомед 5 ПР ЛЮМ». Микробиологический посев осуществляли на среду Чапека. Тотальную ДНК из субстратов выделяли с использованием набора DNeasy PowerSoil ProKit (Qiagen, Германия). Количественную оценку рибосомальных генов осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad).

Биомасса грибов в многолетнем опыте 1997 г. изменялась от 90 мкг/г почвы в варианте с минеральными удобрениями и соломой до 250 мкг/г почвы в контроле (рис. 1). Наименьшая длина мицелия (33.9 м/г почвы) выявлена в варианте с внесением минеральных удобрений, а наибольшая (119.59 м/г почвы) – в варианте с соломой. Все показатели, связанные с биомассой грибов, снижались ко 2-му сроку отбора. Минеральные удобрения уменьшали, а солома – увеличивала длину мицелия. Соотношение углерода грибной биомассы ($C_{\text{мик}}$) к органическому углероду ($C_{\text{орг}}$) варьировало от 1.89 в NPK+-солома до 4.22 в контроле (рис. 1).

Биомасса грибов в многолетнем опыте 1968 г. варьировала в диапазоне от 65 мкг/г почвы в почве с минеральными удобрениями до 474 мкг/г почвы в ризосфере ячменя с органическими удобрениями (рис. 1). Доля мицелия варьировала от 12 до 81%. Наименьшая длина мицелия (14.5 м/г почвы) выявлена в почве с минеральными удобрениями, а наибольшая (193.6 м/г почвы) – в ризосфере с органическими удобрениями под ячменем. Все показатели, характеризующие биомассу грибов, повышались ко второму сроку отбора. При внесении минеральных удобрений отмечалось уменьшение биомассы грибов и длины мицелия, а при органической системе удобрения происходило увеличение этих показателей. Во всех образцах ризосферы биомасса грибов была выше по сравнению с внекорневой почвой. Численность одноклеточных грибных propagул составляла 10^5 - 10^6 клеток/г почвы. Большая часть (85-100%) propagул микобиоты представлена мелкими формами 2-3 мкм, а численность крупных propagул не превышала 10^3 клеток/г почвы. Соотношение $C_{\text{мик}}/C_{\text{орг}}$ варьировало от 1.68 во внеризосферной почве с минеральными удобрениями под ячменем 1-го срока отбора до 5.8 в ризосфе-

ре без удобрений под ячменем 2-го срока отбора (рис. 1).

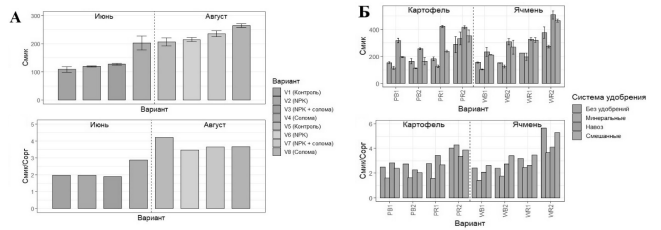


Рис. 1. Содержание углерода биомассы грибов ($C_{\text{мик}}$) и отношение $C_{\text{мик}}/C_{\text{орг}}$ в многолетнем опыте 1997 г.; в многолетнем опыте 1968 г.

Численность рибосомальных генов грибов ITS рРНК в многолетнем опыте 1997 г. варьировала от 3.74×10^8 до 1.31×10^9 копий генов/г почвы, причем заделывание соломы повышало значения в 2 раза (рис. 3). Выявлено значительное варьирование микобиологических параметров проанализированных почв в зависимости от срока отбора образцов. Для биомассы грибов и численности копий генов ITS рРНК грибов фактор временной динамики превышал влияние, как минеральных удобрений, так и соломы, причем ее заделывание существенно повышало большинство показателей. Минеральные удобрения, напротив, снижали биомассу грибов. Поэтому заделывание соломы может быть использовано для повышения биологической активности почвы и ее плодородия, а также для нивелирования негативного влияния минеральных удобрений на почвенную микобиоту.

Численность ITS рРНК грибов в многолетнем опыте 1968 г. варьировала от 6.0×10^8 копий генов/г почвы для вариантов без удобрений и с минеральными удобрениями во внекорневой почве до 1.6×10^{10} копий генов/г почвы в вариантах с внесением органических и органо-минеральных удобрений (рис. 2). Отмечено увеличение численности генетического материала грибов при внесении органических удобрений. Отмечали значительный рост (от 13 до 26 раз) численности копий генов грибов в ризосфере ячменя, отобранной в августе, где значения были на порядок выше по сравнению с другими вариантами. В целом, для обоих сроков отбора характерна тенденция к увеличению значений численности ITS рРНК грибов в ряду: NPK < без удобрений < NPK + навоз < навоз. Таким образом, минеральные удобрения существенно угнетают, а органические – стимулируют развитие грибов в агродерново-подзолистой почве.

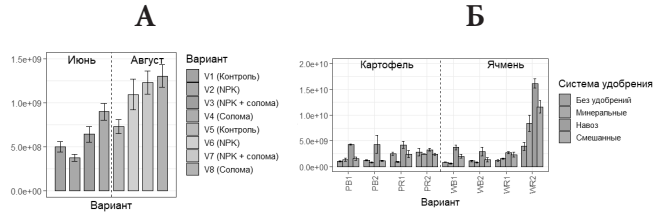


Рис. 2. Численность копий генов ITS рДНК грибов: А – в многолетнем опыте 1997 г.; Б – в многолетнем опыте 1968 г.

Таким образом, система удобрения оказывает ведущую роль в формировании микобиоты агродерново-подзолистой почвы, отражаясь практически на всех его характеристиках, как во внекорневой почве, так и в ризосфере сельскохозяйственных растений. Органическая система удобрений способствует увеличению биомассы грибов и оптимизации функционального статуса микобиоты, придавая системе «почва – грибы – расте-

ние» повышенную стабильность за счет комфортных эколого-трофических условий для микобиоты. Минеральные удобрения, даже в умеренных дозах, напротив, снижали грибную биомассу и численность копий генов микобиоты в почве. Поэтому биологизация земледелия с внесением в почву органических удобрений является обязательным условием повышения биологической активности почвы и устранения негативных рисков, создаваемых минеральными удобрениями. Сочетание классических эко-физиологических параметров с молекулярно-генетическими методами позволяет дать всестороннюю характеристику состояния почвенного микобиоты и оценить его отклик на агрогенные факторы.

Работа выполнена молодежной лабораторией Почвенного углерода и микробной экологии в рамках госзадания Министерства Образования и науки Российской Федерации «Исследование микробных драйверов секвестрации и депонирования органического углерода в почвах агроэкосистем» (№ FGUR-2022-0018) и проекта РНФ № 21-76-10025 «Роль агробиотехнологий в регулировании разнообразия, функций и межмикробных связей почвенного микробиома».

Список литературы

1. Wu L., Zhang W., Wei W., He Z., Kuzyakov Y., Bol R., Hu R. Soil organic matter priming and carbon balance after straw addition is regulated by long-term fertilization // *Soil Biology and Biochemistry*. 2019. V. 135. P. 383-391. DOI: 10.1016/j.soilbio.2019.06.003

2. Никитин Д.А., Семенов М.В., Ксенофонтова Н.А., Тхакахова А.К., Русакова И.В., Лукин С.М. Влияние внесения соломы на состояние микробиома дерново-подзолистой почвы // *Почвоведение*. 2023. № 5. С. 640-653. DOI: 10.31857/S0032180X22601189

3. Кудеяров В.Н. Семенов В.М. Проблемы агрохимии и современное состояние химизации сельскохозяйственного производства в Российской Федерации // *Агрохимия*. 2014. № 10. С. 3-17.

4. Семенов М.В., Ксенофонтова Н.А., Никитин Д.А., Тхакахова А.К., Лукин С.М. Микробиологические показатели дерново-подзолистой почвы и ее ризосферы в полувекровом полевом опыте с применением разных систем удобрения // *Почвоведение*. 2023. № 6. С. 715-729. DOI: 10.31857/S0032180X22601220

5. Лукин С.М. История научных исследований по плодородию почв и применению удобрений (к 105-летию с образования Судогодского опытного поля ФГБНУ ВНИИОУ) // *История науки и техники*. 2018. № 3. С. 3-17.

ФОРМИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ПРИ ОТСТУПЛЕНИИ ЦЕЙСКОГО ЛЕДНИКА

Николаев Н.С.², Кирцидели И.Ю.¹, Ильющин В.А.¹, Власов Д.Ю.¹

¹ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия

² Российский Государственный Педагогический Университет, Санкт-Петербург

Микроскопические грибы являются важнейшим участником большинства экосистем и неотъемлемой частью почвенной микробиоты, осуществляют широкий спектр процессов в почве и участвуют в круговороте веществ. При этом, сообщества микроскопических грибов остаются сравнительно малоизученным компонентом экосистем. В последнее время всё более актуальной становится тема глобального изменения климата, следствием которого является, в том числе, отход ледников. Отход ледников – это процесс их таяния и деградации. Хотя это естественный процесс, климатические изменения оказывают большое влияние на его динамику. После схода ледника на его месте образуются каменистые осыпи, на которых начинается активный процесс почвообразования.

Целью наших исследований является изучение сукцессии комплексов микроскопических грибов при формировании почвы в процессе отступления Цейского ледника.

Были исследованы комплексы микроскопических грибов, в образцах каменистых субстратов и почв, сформировавшихся на участках, освободившихся при отступлении Цейского ледника в течении более чем 150 лет. Было выделено 6 зон исследования (по длительности времени с момента отхождения ледника): менее 1 года, до 10 лет, до 50 лет, до 75 лет, более 100 лет и более 150 лет. Использовали метод выделения чистых культур на агаризованные питательные среды, проводилась идентификация видов по культурально-морфологическим

признакам и молекулярная идентификация видов по регионам ITS. Были исследованы лигнолитическая, целлюлозолитическая, амилолитическая активность культур грибов, а также их способность к кислотообразованию. Для энтомотогенных видов микромицетов были исследованы фосфолипазная, гемолитическая и хитинолитическая активность.

Нами был исследован динамика численности, биомассы и видового разнообразия микроскопических грибов в процессе формирования растительных сообществ. Идентифицировано 78 видов микроскопических грибов. Грибы отдела Mucoromycota были представлены 8 видами из 3 порядков. Отдел Basidiomycota, среди культивируемых микроскопических грибов являлся минорным компонентом и был представлен 3 видами, имеющими дрожжевую форму. Отдел Ascomycota насчитывал 67 видов и был представлен 5 порядками и 24 семействами. Наибольшим числом видов было представлено семейство *Aspergillaceae*, преимущественно за счет видов рода *Penicillium*, который насчитывал 17 видов. Наибольшее число видов этого рода было обнаружено в почвах растительных сообществ формирующихся в течении более 100 лет.

Эти микромицеты, в основном, являются сапротрофами. Они способны расти на разнообразных субстратах и встречаются в различных местообитаниях от Арктики и Антарктики, до антропогенно загрязненных и высокогорных систем (Houbraken et al., 2012; Samson et al., 2014; Visagie et al., 2014; Kirtsideli et al., 2018, 2020;

Vlasov et al., 2020; Iliushin et al., 2022). Также относительно богатым было семейство *Didymellaceae*, к которому относятся микромицеты таких родов, как *Didymella*, *Episcium* и *Phoma*. Виды этого семейства часто выступают в роли паразитов и эндофитов растений, а также являются важными компонентами почвенных экосистем (Lombard et al., 2015).

Интересно отметить высокое содержание в почвах энтомопатогенного гриба *Cordyceps farinosa*, появление которого отмечено уже на стадии формирования растительных сообществ в первое десятилетие. Возможно связано с активностью насекомых и их ролью в формировании почвы и распространении микроскопических грибов в ней.

Стоит отметить, что в процессе формирования растительных сообществ происходит последовательное замещение исходных видов микроскопических грибов, связанных с каменистыми субстратами и/или криоконитами в первичных почвах на виды, характерные для комплексов микроскопических грибов в богатых органическим веществом почвах.

Численность культивируемых микромицетов в почвах последовательно увеличивалась от нескольких единиц в каменистых субстратах в районе таяния Ледника в 2021 году, до 2,2 миллионов спор (КОЕ/г) в зоне растительных сообществ возрастом 60-75 лет. Это может рассматриваться как накопление пула микроорганизмов, в том числе микроскопических грибов при накоплении органических веществ в процессе формирования плодородного слоя почвы. Так, экспоненциальное увеличение численности наблюдается в течении первых десятков лет, а в дальнейшем увеличение носит более выравненный характер.

Изоляты микроскопических грибов выделенных из почв формирующихся растительных сообществ при отступлении ледника обладали высоким уровнем целлюлолитической активностью – 65%, лигнинолитической активностью обладают более 32% изолятов, амилолитической активностью – 43% изолятов. Способностью к образованию органических кислот обладали 40% изученных изолятов. Изоляты видов *Cordyceps farinosa* (Holmsk.) Kepler, B. Shrestha & Spatafora и *Kodamaea* sp., которые предположительно являлись энтомопатогенными, показали высокую хитинолитическую активность, а *Cordyceps farinosa* также высокую гемолитическую и фосфолипазную активность.

В процессе сукцессии при отступлении ледника отмечено последовательное изменение численности и биомассы микроскопических грибов, а также биологического разнообразия культивируемых микроскопических грибов, соответствующее прямой заместительной модели первичной сукцессии. Подобные результаты уже были показаны для почвенных микромицетов в ледни-

ковой зоне и характеризуют экосистему как стабильную, что не исключается высокую динамичность относительно сезонных изменений (Ke Dong et al, 2016; Svoboda, Henry, 1987). Это является первым шагом к лучшему пониманию участия микроскопических грибов в процессах почвообразования в условиях глобального изменения климата и отступления ледников, также позволяет продвинуться в изучении моделей первичной сукцессии в зонах с экстремальными условиями среды.

Список литературы

1. Houbraeken J. et al. *Rasamsonia*, a new genus comprising thermotolerant and thermophilic
2. *Talaromyces* and *Geosmithia* species. Antonie van Leeuwenhoek. 2012. Vol. 101: 403-421.
3. Samson R.A. et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*. 2014. Vol. 78: 141-173.
4. Visagie C. M. et al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium* / C. M. *Stud Mycol*. 2014. Vol. 78: 343-71.
5. Кирцидели И.Ю., Власов Д.Ю., Ильюшин В.А., Новожилов Ю.К., Зеленская М.С., Чуркина И.В., Баранцевич Е.П. Оценка антропогенной инвазии микроскопических грибов в арктические экосистемы (архипелаг Шпицберген). *Гигиена и санитария*. 2020. 99(2): 145–151.
6. Kirtsideli I Yu., Vlasov D. Yu., Abakumov E.V., Novozhilov Yu.K., Barantsevich E.P
7. Assessment of Anthropogenic Influence on Antarctic Mycobiota in Areas of Russian Polar Stations. *Contemporary Problems of Ecology*. 2018. 11 (5): 449-457.
8. Vlasov D. Yu., Kirtsideli I Yu., Abakumov E.V., Novozhilov Yu.K., Zelenskaya M.S., Barantsevich E.P. Anthropogenic Invasion of Micromycetes to Undisturbed Ecosystems of the Larsemann Hills Oasis (East Antarctica). *Russian Journal of Biological Invasions*. 2020. 11(3): 208-215.
9. Iliushin V.A., Kirtsideli I.Y., Vlasov D.Y. Diversity of culturable microfungi of coal mine spoil tips in Svalbard. *Polar Science*. 2022. 32. 100793
10. Lombard L. et al. Generic concepts in *Nectriaceae*. *Stud Mycol*. 2015. Vol. 80: 189-245.
11. Dong Ke et al.. Soil fungal community development in a high Arctic glacier foreland follows a directional replacement model, with a mid-successional diversity maximum. *Scientific Reports*. 2016.
12. Svoboda J., Henry HR. Succession in Marginal Arctic Environments. *Arctic and Alpine Research*. 1987. 19:4: 373-384.

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ДРЕВЕСНЫХ СУБСТРАТОВ АРКТИЧЕСКОГО РЕГИОНА

Панькова И.Г.¹, Кирцидели И.Ю.¹, Ильюшин В.А.¹, Власов Д.Ю.^{1,2}, Гаврило М.В.³

¹ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургский государственный университет

³ Арктический и антарктический НИИ, Санкт-Петербург

Микроскопических грибов, выделенные из экстремальных мест обитаний арктического региона, обла-

дают высоким адаптационным потенциалом (Naranjo-Ortiz, Gabald n, 2019; Sazanov et al., 2019). Микромицеты

являются одними из наиболее важных организмов, участвующих в формировании почвы, разложении и минерализации органического вещества в Арктике (Al-Maqtari et al., 2019). Несмотря на низкие температуры, высокую уровень радиацию, низкую доступность питательных веществ, микробиоты успешно колонизируют различные субстраты Арктики, в том числе древесные субстраты плавника и антропогенно привнесенную древесину. Адаптация к древесным субстратам в экстремальных условиях Арктики включает селективный отбор изолятов, с одной стороны, обладающих психрофильными и психротрофными свойствами, с другой способных выделять ферменты, способствующие разрушению древесины и использованию целлюлозы и лигнина в качестве питательных веществ.

Целью нашей работы было исследование ферментативная активность микроскопических грибов, выделенных с древесины плавника и антропогенно привнесенной древесины островов арктического региона.

Образцы древесины были собраны в полевой период 2021, 2022 г.г. Было исследовано 58 изолятов микробиоты, выделенных с образцов древесины с архипелага Новая Земля и Земли Франца-Иосифа.

Показано, что среди изолятов выделенных с о.Хейса, лигнинолитической активностью обладают более 50%, амилолитической активностью – 60 %, а целлюлозолитической активностью – 90%. Среди изоляты, выделенных с архипелага Новая Земля, данные показатели были несколько ниже, лишь 27% изученных изолятов обладали лигнинолитической активностью, 48% - амилолитической активностью и более 80% целлюлозолитической активностью.

В ходе проведенных нами экспериментов было обнаружено, что коэффициенты ферментативной активности изолятов незначительно изменяются с течением времени. Исследование воздействия температуры на показатели лигнинолитической активности показало, что наибольшие коэффициенты лигнинолитической активности отмечены при температуре 14°C. Такие, сравнительно низкие температуры, при которых отмечаются наибольшие коэффициенты ферментативной активности, по-видимому связаны именно с адаптацией микроскопических грибов к Арктическим регионам. Не отмечено корреляция скорости роста и коэффициенты ферментативной активности изолятов при различных температурах.

Стоит отметить, что различные изоляты одного вида показали разные уровни ферментативной активности. Это закономерность была отмечена, как для лигнинолитической, так и целлюлозолитической и амилолитической активности. Она не зависела от места выделения изолятов и сохранялась как для изолятов выделенных с древесины архипелага ЗФИ, так и Новая Земля. Так у изолятов *Cadophora luteo-olivacea* (DI-116 и DI-138) значение коэффициентов лигнинолитической активности колебалось от 0,7 до 0,9 соответственно, а у изолятов *Ochrocladosporium frigidarii* (DI-103 и DI-203) от 0,3 до 0,6. У разных изолятов *Pseudogymnoascus pannorum* может отмечаться как сравнительно высокая способность к лигнинолитической активности, так и ее полное отсутствие. Это свидетельствует о различных свойствах, а возможно различном происхождении изолятов данных видов, даже в пределах одного местообитания.

Из 58 исследованных изолятов только 2 изолята (*Phaeococcomyces* sp. и *Cytobasidium ongulense*) показали полное отсутствие способностей к разложению лигнина, целлюлозы и крахмала, 17 изолятов (29%) показали положительную реакцию в одном из тестов, 22 изолята (38%) показали положительную реакцию в двух тестах, 15 изолятов (25%) показали положительную реакцию во всех трех тестах, т.е. данные изоляты обладали всеми тремя исследованными ферментативными активностями.

Эти изоляты относились к видам *Cadophora luteo-olivacea*, *Epicoccum nigrum*, *Exophiala xenobiotica*, *Hormodendrum* sp., *Leptosphaeria sclerotoides*, *Ochrocladosporium frigidarii*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Phoma herbarum*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Trichoderma viride* *Xenopolyscytalum* sp.

На основании результатов проведенного анализа изученные изоляты были условно разделены на 3 группы, отличающиеся по степени адаптации к древесному субстрату.

В первую группу (случайных для древесного субстрата) показавший отсутствие способности к разложению лигнина, целлюлозы и крахмала. Ко второй группе можно условно отнести виды, обладающие амилолитической и целлюлозолитической активностью. К третьей группе можно отнести виды, обладающие лигнинолитической активностью, как правило, в совокупности с целлюлозолитической активностью, и являющиеся хорошо адаптированными к разложению древесного субстрата в экстремальных условиях Арктики.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при формировании комплексов микробиоты на древесине в арктических экосистемах, происходит заселение древесины видами, типичными для почв Арктики и вторично-водными микроскопическими грибами (преимущественно аскомицетами). (Кирцидели и др. 2012, 2015, 2021, Панькова и др., 2023) Проведенная работа позволяет предположить, что в состав микобиоты древесных субстратов входят виды, хорошо адаптированные к древесным субстратам в условиях Арктики, а длительное нахождение в морской воде при низких температурах приводит к отбору микробиоты, способных разлагать древесный субстрат при низких температурах в экстремальных условиях высоких широт.

Результаты исследования ферментативной активности изолятов культивируемых микроскопических грибов, впервые проведенного для микробиоты древесных субстратов с остров архипелагов Новая Земля и Земля Франца Иосифа, свидетельствуют о том, что по мере заселения древесины происходит накопление грибов, обладающих способностью к ферментативному разложению лигнина и целлюлозы. Проявление ферментативной активности во многих случаях существенно различается у изолятов одного вида. По-видимому, ферментативный аппарат являются ключевой особенностью адаптации к древесному субстрату в условиях Арктики.

Список литературы

1. Naranjo-Ortiz M.A., Gabaldón T. Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. // Biol Rev Camb Philos Soc. 2019. V.94 (6). P.2101-2137.
2. Sazanova K.V., Senik S.V., Kirtsideli I.Y., Shavarda A.L. Metabolomic Profiling and Lipid Composition of Arctic and Antarctic Strains of Micromycetes *Geomyces pannorum* and *Thelebolus*

microsporus Grown at Different Temperatures. // Microbiology. 2019. V.88. P. 282–291.

3. Al-Maqtari, Q.A., Waleed, A.-A., and Mahdi, A.A., Cold-active enzymes and their applications in industrial fields - A review. // Int. J. Res. Agric. Sci. 2019. V. 6(4). P. 2348–3997.

4. Кирцидели И.Ю., Власов Д.Ю., Баранцевич Е.П., Крыленков В.А., Соколов В.Т. Распространение терригенных микровицетов в водах Арктических морей. // Микология и фитопатология. 2012. Т. 46(5). С. 306–310.

5. Кирцидели И.Ю. Микроскопические грибы в почвах острова Хейса (земля Франца-Иосифа). // Новости систематики низших растений. 2015. Т. 49. С. 151–160.

6. Кирцидели И. Ю., Лукина Е. Г., Ильющин В. А., Власов Д. Ю. Разнообразие микроскопических грибов на древесине в береговой зоне Гренландского моря (архипелаг Шпицберген). // Микология и фитопатология. 2021. Т. 55(3). С. 178–188.

7. Панькова И. Г., Кирцидели И. Ю., Ильющин В. А., Зеленская М. С., Власов Д. Ю., Гаврило М. В., Баранцевич Е. П. Разнообразие микроскопических грибов на древесине прибрежной зоны острова Хейса (архипелаг Земля Франца – Иосифа). // Микология и фитопатология. 2023. Т. 57 (3). С. 184–197.

DICTYOSTELIUM DISCOIDEUM: ПЕРВОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ В СИБИРИ В ПОЧВАХ РАЗЛИЧНОГО ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Павлов И.Н.^{1,2}, Арканова М.Е.^{1,2}, Литовка Ю.А.^{1,2}

¹Институт леса им. В. Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск

²Сибирский ГУНТ им. М.Ф. Решетнева, Красноярск

Dictyostelium discoideum Raper, эукариотический микроорганизм на этапе роста размножается путем бинарного деления и использует фагоцитоз для извлечения питательных веществ из бактерий в почве. При истощении питательных веществ голодание заставляет амёб проходить цикл развития, в котором около 100 000 клеток объединяются путем хемотаксиса благодаря воздействия циклического аденозинмонофосфата, дифференцируются в несколько типов клеток и проходят через несколько многоклеточных стадий, чтобы в конечном итоге образовать плодовое тело, состоящее из содержащего споры соруса, покоящегося на стебле мертвых клеток [1].

D. discoideum — один из восьми модельных организмов немлекопитающих, признанных Американским Национальным институтом здравоохранения [2]. Его использование возможно благодаря сходству клеточной структуры, поведения и внутриклеточной передачи сигналов с клетками млекопитающих. Гаплоидный набор хромосом, полностью секвенированный, поддающийся генетическим манипуляциям, его уникальный и короткий жизненный цикл с одноклеточными и многоклеточными стадиями, а также фенотипическое богатство, делают *Dictyostelium* репрезентативным и простым модельным организмом [3, 4]. Легко выращивается клоноально, как эукариотический микроорганизм и легко доступен для биохимических, клеточно-биологических и физиологических исследований [5].

По результатам разработки методов высокопроизводительного скрининга во время роста и развития *D. discoideum* показана возможность его успешного использования в испытаниях на токсикологическую безопасность для млекопитающих широкого спектра тестируемых соединений [6]. *D. discoideum* все чаще используется при оценке токсичности лекарств, токсинов и токсичных соединений в фармакологических исследованиях [7].

Недавно *D. discoideum*, являющийся релевантным живущим на поверхности почвы организмом, был предложен в качестве тестового организма для оценки качества окружающей среды. *D. discoideum*, как биосенсор, высокочувствителен к полициклическим ароматическим углеводородам, минеральному маслу и, в меньшей степени, к тяжелым металлам [8]; нейроток-

сичных фосфорорганических препаратов [9]; к Zn, Cd и дизельному топливу в почве, недавно загрязненной и после двухлетнего периода [10].

Токсичность озерных отложений, загрязненных ДДТ и его метаболитами не влиял на жизнеспособность клеток; однако наблюдалось сильное снижение скорости репликации [11]. Также клетки *D. discoideum* были использованы в биоанализе для оценки реакции на стресс после воздействия бензо[а]пирена и двух тяжелых металлов (меди и ртути) [12].

При проведении тестов для оценки токсичности пресной воды, загрязненным металлами и органическими соединениями с использованием *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna* и *Pseudokirchneriella subcapitata* более чувствительные и быстрые ответы были получены при оценке воздействия на *D. discoideum* [13].

Также особый интерес, с нашей точки зрения, представляет исследование социальных амёб в вопросах защиты растений. При исследовании взаимодействия между *D. discoideum* и нематодами, паразитирующими на растениях, обнаружена их способность отталкивать нематод, паразитирующих на растениях [14]. В лабораторных условиях экстракты из плодовых тел *D. discoideum* продемонстрировали высокую способность защищать корни растений.

Образцы почв для выделения *D. discoideum* были взяты на четырех участках. Два участка отличались высоким уровнем техногенного загрязнения: в зоне непосредственного распространения выбросов Красноярского алюминиевого завода (КраАЗ) и в зоне высокого загрязнения почв Норильского промышленного района. Контрольные участки располагались с наветренной стороны: от алюминиевого завода на расстоянии 35 км в смешанном хвойно-лиственном лесу и в районе озера Боганид, на удалении от г. Норильска в 45 км.

Для почв под факелом КраАЗ (обыкновенные черноземы) характерна крайне высокая концентрация химических соединений, токсичных для биологических объектов. В загрязнённых почвах установлено значительное превышение контрольных значений по содержанию бенз(а)пирена, тяжелых металлов, соединений фтора и др. В местах взятия образцов содержание общего фтора составляло 5–6 г/кг, водорастворимого - более 0,25 г/кг. В целом, превышение санитарно-гигиенических ПДК

установлено на удалении до 5 км (и более, при определенном сочетании метеорологических факторов).

Для почв Норильского промышленного района характерно высокое содержание тяжелых металлов (железа, кобальта, марганца, меди, никеля, хрома) как природного, так и техногенного происхождения. В местах взятия образцов содержание никеля достигало 70 мг/кг. Растительный покров представлен листовничником кустарниково-кустарничково-злаковым, характеризующимся унаследованными признаками техногенной деградации. Основными ценоотическими элементами являются: среди кустарников – *Betula nana* и *Duschekia fruticosa*, среди кустарничков – *Vaccinium uliginosum* и *Ledum decumbens*, среди травянистых растений – *Equisetum arvense*, *Calamagrostis langsfordii*, *Poa pratensis*, среди мхов – *Pohlia* spp. Почвенный покров представлен криоземами глееватыми. Диагностируются по сочетанию подстильно-торфяного (О) и криотурбированного оглеенного (CRg) горизонта. Почвенный покров контрольного участка представлен криоземами грубогумусовыми глееватыми. Диагностируются сочетанием грубогумусового (АО) и криотурбированного оглеенного (CRg) горизонтов.

Каждый образец (приблизительно 50 г) был помечен с указанием даты, типа растительности, высоты и ширины/долготы. Все образцы хранили при температуре 4°C. Выделение и культивирование осуществлялось на основании классических методов [15].

Первичную идентификацию осуществляли на основании морфологических признаков [16], с обязательной молекулярно-генетической верификацией на основе межрибосомального транскрибируемого спейсера (ITS рРНК).

D. discoideum присутствовала на всех исследуемых участках и показала высокую чувствительность к техногенному загрязнению, особенно к соединениям фтора.

Список литературы

1. Dunn J. D., Bosmani C., Barisch C., Raykov L., Lefrançois L. H., Cardenal-Muñoz E., Soldati T. Eat prey, live: Dictyostelium discoideum as a model for cell-autonomous defenses. *Front Immunol* 2017; 8: 1906.
2. Boatti L., Rapallo F., Viarengo A., Marsano F. Toxic effects of mercury on the cell nucleus of Dictyostelium discoideum. *Environmental toxicology*, 2017; 32(2), 417-425.
3. Eichinger L., Pachebat J. A., Glöckner G., Rajandream M. A., Sucgang R., Berriman M., Kuspa A. The genome of the social amoeba Dictyostelium discoideum. *Nature*, 2005; 435(7038), 43-57.
4. Martín-González J., Montero-Bullón J. F., Lacal J. Dictyostelium discoideum as a non-mammalian biomedical model. *Microbial biotechnology*, 2021; 14(1), 111-125.
5. Annesley S. J., Fisher P. R. Dictyostelium discoideum—a model for many reasons. *Molecular and cellular biochemistry*, 2009; 329, 73-91.
6. Baines R. P., Wolton K., Thompson C. R. Dictyostelium discoideum: An alternative nonanimal model for developmental toxicity testing. *Toxicological Sciences*, 2021; 183(2), 302-318.
7. Alexander S., Min J., Alexander H. Dictyostelium discoideum to human cells: pharmacogenetic studies demonstrate a role for sphingolipids in chemoresistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2006; 1760(3), 301-309.
8. Balbo A., Bozzaro S. A novel bioassay for evaluating soil bio-hazards using Dictyostelium as biosensor: validation and application to the BIO-BIO project. 2008; 1137-1143.
9. Falugi C., Amaroli A., Evangelisti V., Viarengo A., Corrado M. U. D. Cholinesterase activity and effects of its inhibition by neurotoxic drugs in Dictyostelium discoideum. *Chemosphere*, 2002, 48(4), 407-414.
10. Rodríguez-Ruiz A., Dondero F., Viarengo A., Marigómez I. Toxicity assessment of diesel-and metal-contaminated soils through elutriate and solid phase assays with the slime mold Dictyostelium discoideum. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2016; 35(6), 1413-1421.
11. Sforzini S., Governa D., Boeri M., Oliveri L., Oldani A., Vago F., Borrelli R. Relevance of the bioavailable fraction of DDT and its metabolites in freshwater sediment toxicity: New insight into the mode of action of these chemicals on Dictyostelium discoideum. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016; 132, 240-249.
12. Dondero F., Jonsson H., Rebelo M., Pesce G., Berti E., Pons G., Viarengo A. Cellular responses to environmental contaminants in amoebic cells of the slime mould Dictyostelium discoideum. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2006; 143(2), 150-157.
13. Sforzini S., Dagnino A., Torrielli S., Dondero F., Fenoglio S., Negri A., Viarengo A. Use of highly sensitive sublethal stress responses in the social amoeba Dictyostelium discoideum for an assessment of freshwater quality. *Science of the total environment*, 2008; 395(2-3), 101-108.
14. Saito Y. F., Miyazaki S. H., Bartlem D. G., Nagamatsu Y., Saito T. Chemical compounds from Dictyostelium discoideum repel a plant-parasitic nematode and can protect roots. *Plos one*, 2018; 13(9), e0204671.
15. Cavender J. C., Raper K. B. The Acrasieae in nature. I. Isolation. *American Journal of Botany*, 1965; 52(3), 294-296.
16. Zou Y, Hou J, Guo S, Li C, Li Z, Stephenson SL, Pavlov IN, Liu P, Li Y. Diversity of Dictyostelid Cellular Slime Molds, Including Two Species New to Science, in Forest Soils of Changbai Mountain, China. *Microbiol Spectr* 2022; 10:e02402-22.

ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ГРИБАМИ ПАМЯТНИКОВ ИСКУССТВА И КУЛЬТУРЫ

Ребрикова Н.Л.

ГНИИ реставрации, лаборатория биологических исследований, Москва

В процессе диагностики повреждений грибами памятников искусства и культуры могут возникать следующие проблемы. Это ограничения отбора проб с извлечением даже небольшого количества материала памятника, потеря жизнеспособности клетками грибов в составе старых повреждений (в составе колоний, которые развивались на памятнике много лет назад),

наличие поверхностных загрязнений и присутствие в связи с этим большого количества случайных контаминантов. При наличии загрязнений желательно также делать посевы с участков без признаков развития колоний грибов, так называемые контрольные пробы, чтобы знать уровень микробной нагрузки на поверхности памятника.

Классические методы диагностики повреждения памятников грибами предполагают определение в исследуемом очаге наличия мицелия, конидий, спор с помощью световой и электронной микроскопии, так называемая «прямая» микроскопия, посев на среды, рекомендуемые для выделения гетеротрофных микромицетов, и затем сопоставление результатов посевов и прямой микроскопии. Заражение образцов выделенным штаммом или штаммами микромицетов с целью воссоздания наблюдаемой картины повреждения памятника в настоящее время практически не используется.

Микологическое исследование обычно начинается с натурного обследования памятника, отбора проб для микроскопного исследования и посева разными способами (уколами, штрихом, отпечатком, методом разведения пробы для определения численности грибов на единицу площади или веса пробы и другими). В ходе натурного обследования необходимо неразрушающим методом с помощью контактного влагомера определить влажность материалов памятника, на которых развиваются или развивались ранее грибы. Влагосодержание материала позволяет судить о наличии или отсутствии условий для роста грибов.

Один из примеров диагностики повреждений грибами памятника с помощью традиционных методов. В простенках между окнами северо-западного барабана собора «Всех Святых в земле Российской просиявших» Горненского монастыря, на окраине Иерусалима, появился темный налет, похожий на копоть. Группу темноокрашенных олиготрофов, развивающихся на стенах и сводах в условиях конденсационного увлажнения, часто называют «сажистой» плесенью. Необходимо было установить является ли темный налет проявлением роста грибов или копотью, которая часто встречается в действующих храмах. Со стены барабана были отобраны пробы штукатурки с черным налетом для микологического исследования. Они были изучены с помощью микроскопа Leica EZ 4D в отраженном свете. На поверхности штукатурки были обнаружены мелкие звездчатой формы колонии грибов. Из состава колоний был взят материал и помещен на предметное стекло в молочную кислоту. В результате микроскопного исследования препаратов с помощью микроскопа Leica DM LS2 в проходящем свете были обнаружены грибные гифы и скопления конидий, характерных для рода *Cladosporium*, указывающих на развитие колоний грибов на штукатурке. С участков штукатурки с темноокрашенными звездчатыми колониями были сделаны микологические посевы. Посевы делали следующим образом. Небольшое количество исследуемого материала с помощью скальпеля помещали в разные сектора чашек Петри со средой Чапека. Всего было сделано 18 посевов. На пятый день инкубации при комнатной температуре во всех 18-ти посевах началось развитие колоний вида рода *Cladosporium*. На основании проведенного исследования показано, что темный налет в барабане сформировался в результате развития колоний вида рода *Cladosporium*. Виды рода *Cladosporium* часто развиваются на материалах с небольшим содержанием органических веществ (грибы олиготрофы) в условиях конденсационного увлажнения. Причина развития колоний грибов на штукатурке – это недостаточная вентилиция барабана.

Многие грибы не выделяются на обычные питательные среды, например, грибы экстремофилы, лихенизированные грибы и другие. В условиях музейных и

библиотечных фондов в так называемых влажностных карманах встречаются колонии экстремально ксерофильных форм грибов, которые при неоднократных попытках не удавалось выделить на традиционные питательные среды. Но при использовании тех же сред, но с добавлением веществ, снижающих активность воды (либо глицерин, либо сахароза, либо поваренная соль или их смеси), ксерофилы смогли развиваться. По-видимому, на специализированные среды можно выделить и другие грибы, развивающиеся в экстремальных условиях.

Метагеномный анализ позволяет определить грибы, присутствующие на памятнике, без необходимости их выделения и культивирования. Таким методом определяются некультивируемые грибы, нежизнеспособные грибы, все видовое разнообразие микроорганизмов, присутствующих на участке, с которого отбиралась проба. С помощью метагеномного анализа были получены новые данные о биоразнообразии грибов и бактерий на памятниках. В тоже время полученные результаты поставили ряд вопросов. В последние годы методом метагеномного анализа проведены исследования ряда памятников со следами повреждения микроскопическими грибами и без них.

В Португалии на красочном слое картины, написанной акриловыми красками, с помощью 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. Следует отметить, что разнообразные микроорганизмы были определены и на контрольных неизменных (непигментированных) участках красочного слоя [1].

На автопортрете Леонардо да Винчи в случае отбора проб для метагеномного анализа с помощью стерильных ватных тампонов обнаружены лихенизированные грибы (лишайники): *Caloplaca* spp., *Verrucaria nigrescens*. В случае, когда для отбора проб были использованы специальные пленки, они не выявлены. До использования культурально независимых методов некультивируемые лихенизированные грибы никогда ранее не обнаруживались в условиях музейных фондов. Полученные неожиданные результаты объяснены контаминацией автопортрета спорами или фрагментами мицелия лихенизированных грибов, осевшими на него из воздуха [2]. Спустя пять лет микробиом рисунков Леонардо да Винчи, включая автопортрет, был изучен с помощью инновационного геномного подхода Nanopore. Результаты были неожиданными, обнаружено большое количество ДНК человека, ДНК бактерий. ДНК грибов практически не найдено, присутствие которой изначально предполагалось. Многие обнаруженные бактерии оказались типичными для микробиома человека и появились в результате взаимодействия рисунков с консерваторами, еще часть бактерий занесена с экскрементами мух. ДНК человека на рисунках появилось в результате работы консерваторов [3].

Несмотря на обнаружение ДНК грибов и прокариот на живописи и графических произведениях, находящихся в музеях, биоцидные обработки этих произведений не предлагаются [1,2]. Это объясняется тем, что музейные условия хранения исключают возможность развития микроорганизмов на произведениях. Источники присутствия микроорганизмов на произведении

ях 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. 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.

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 микробиом на тестируемом участке. Определение АТФ в мицелии и спорах ксерофилов из музейных фондов позволило показать их жизнеспособность, и показать, что отрицательный результат их

выделения на питательные среды был связан с невозможностью их роста на средах с высоким водным потенциалом.

Список литературы

1. Paiva de Carvalho H., Sequeira S.O., Pinho D. et al. Combining an Innovative Non-Invasive Sampling Method and High-Throughput Sequencing to Characterize Fungal Communities on a Canvas Painting // *International Biodeterioration and Biodegradation* — 2019, Vol. 145, Issue. 3. — P. 1–9.
2. Piñar G., Taker H., Sterflinger K., Pinzari F. Amid the Possible Causes of a Very Famous Foxing: Molecular and Microscopic Insight into Leonardo da Vinci's Self-Portrait // *Environmental Microbiology Reports* — 2015. Vol. 7, Issue 6. — P. 849–859.
3. Piñar G., Sclocchi M.C., Pinzari F. et al. The microbiome of Leonardo da Vinci's Drawings: A bio-Archive of their History // *Front. Microbiolog.*, 20, November, 2020, volume II – 20201 DOI: 10.3389/fmicb.2020.593401

РАЗВИТИЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ В ГИПОМАГНИТНЫХ УСЛОВИЯХ, СВОЙСТВЕННЫХ ЛУНЕ И ОКОЛОЛУННОМУ ПРОСТРАНСТВУ

Родимин В.Д.¹, Харин С.А.¹, Поддубко С.В.¹, Кураков А.В.², Кулачкова С.А.², Ярмеева М.М.², Лебедев В.М.³, Спасский А.В.³

¹Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

²МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва

³НИИ ядерной физики имени Д.В. Скобельцына МГУ, Москва

Данные, накопленные за время эксплуатации обитаемых космических комплексов, таких как орбитальная станция “Мир” и Международная космическая станция (МКС), позволяют с уверенностью заявить о возможности расширения присутствия человека в космосе за пределы околоземной орбиты. Дальнейшее развитие космонавтики позволит разработать и создать проекты, дающие возможность приступить к освоению уже окололунного пространства и поверхности нашего естественного спутника. Это подразумевает под собой создание, как орбитальных лунных баз, так и герметичных обитаемых объемов непосредственно на, или под поверхностью Луны. При обсуждении герметически замкнутых сред обитания, встаёт вопрос об условиях длительного пребывания космонавтов на борту космического аппарата или в объёме лунной базы. Формирование микробного сообщества в обитаемых отсеках лунных модулей будет протекать в специфических условиях по ряду физических параметров. Если, по всей видимости, температура, относительная влажность воздуха и его химический состав лунных обитаемых комплексов будут мало отличаться от таковых на МКС и Земле, то магнитное поле на Луне составляет от 0,1 до нескольких нТл, что в тысячи раз слабее, чем земных условиях.

Вместе с тем влияние гипوماгнитного поля (ГПМ) на биологические системы исследовали редко, и механизмы действия данного поля остаются неясными [1]. При рассмотрении микробиологического сообщества, присутствующего в объёмах космических комплексов,

особого внимания заслуживают микроскопические грибы, поскольку они являются одной из главных его составляющих. Попадание грибов во внутренние объёмы космических объектов является неизбежным и происходит при их строительстве и эксплуатации [2]. Так же, как и на МКС, в локальных зонах внутреннего объёма лунных модулей (за панелями, вблизи работающей аппаратуры) микроклиматические параметры будут колебаться в широком диапазоне вплоть до выпадения конденсата атмосферной влаги, что вызывает активное развитие грибов. По этой причине, чрезвычайно важно понимать, как гипوماгнитные условия (ГМУ) влияют на характер роста микроскопических грибов и их метаболизм. Получение таких данных имеет как научный интерес, так и практическое значение для оценки медицинских и технических рисков, связанных с развитием микробиоты.

Большинство работ в области изучения магнито-биологических эффектов у грибов рассматривают воздействие МП величинами, близкими к геомагнитному полю, либо превышающими его. Исследования влияния ГМП, близких по своим характеристикам к МП Луны, проводились очень редко и сводятся лишь к единичным работам [3, 4].

Проведённое нами исследование было посвящено изучению влияния ГМУ на жизнеспособность и характеристики роста микроскопических грибов.

Были отработаны методики по изучению воздействия ГМП на микроскопические грибы в гипوماгнитных камерах ГМК-1 и ГМК-2. Данные установки

представляют собой цилиндрические камеры из магнитомягкого материала с рабочим объёмом 28 л. Стенки камер являются двухсекционным магнитным экраном, изготовленным из аморфной пермаллоевой ленты. В промежутке между внутренней и внешней секциями экрана расположена однослойная размагничивающая катушка. Камеры ГМК делают возможным снижение геомагнитного поля в 1000 - 2000 раз [5]. Максимальное значение МП после размагничивания не превышает 45 нТл.

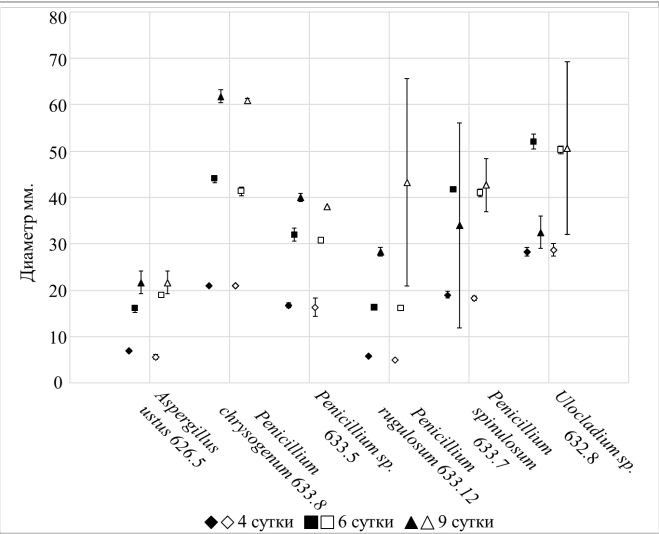
Исследование проводили на штаммах микроскопических грибов *Aspergillus ustus* 626.5, *Penicillium chrysogenum* 633.8, *Penicillium* sp. 633.5, *Penicillium rugulosum* 633.12, *Penicillium spinulosum* 633.7, *Ulocladium* sp. 632.8, выделенных из проб, отобранных с поверхностей интерьера российского сегмента (РС) МКС в завершающий период работы экспедиции МКС-69.

Тест-культуры микромицетов экспонировали от 4 до 28 дней во внутреннем объёме камер, при ГМП не превышающем 45 нТл. После окончания экспонирования оценивали диаметр колоний тест-культур, их макро- и микроморфологические признаки, жизнеспособность спор, а также характер роста микромицетов на образцах конструкционных материалов, используемых в космической технике.

На основе ГОСТа 9.048 [6] оценивали интенсивность обрастания полимерных и металлических материалов тест-культурами микромицетов при экспонировании образцов материалов в течение 14 и 28 суток в ГМУ при температуре 29 °С и влажности более 90 %.

Оценка роста микромицетов на среде Чапека-Докса по диаметру образованных ими колоний показала, что длительное экспонирование тест-культур в ГМУ не повлияло на их рост на питательной среде. Диаметр колоний всех использованных в исследовании грибных штаммов после 4, 6 и 9 суток экспонирования в ГМУ достоверно не отличался от диаметра колоний контрольной группы грибов, культивируемых в течение такого же периода времени в геомагнитных условиях (рис. 1).

Рис. 1. Диаметр колоний грибных штаммов при их культивировании в течение 4, 6 и 9 суток на агаровой среде Чапека



в геомагнитном поле (чёрные маркеры) и ГМУ не превышающем 45 нТл (белые маркеры)

ГМУ не оказывали существенного влияния на жизнеспособность спор микромицетов. Культивирование посевов споровых суспензий тест-культур в течение 4, 6 и 9 суток в ГМП интенсивностью не более 45 нТл в подавляющем большинстве случаев не изменяло чис-

ленность КОЕ по сравнению с контрольными посевами, инкубированными в условиях нормального МП Земли. Единственным исключением являлся штамм *A. ustus* 626.5, численность жизнеспособных спор которого была в 3 раза больше на 9 сутки экспонирования в ГМУ, чем в геомагнитных условиях.

Жизнеспособность тест-культур не изменялась при экспонировании в ГМУ их споровых суспензий, приготовленных как в дистиллированной воде, так и жидкой среде Чапека – Докса. Процент прорастания спор для всех штаммов и сроков экспонирования не имел статистически значимых отличий по сравнению с контрольными вариантами стёкол, выдержанными в геомагнитных условиях.

Кроме того, нам не удалось обнаружить влияние ГМУ на морфологические признаки исследуемых штаммов. Окраска колоний, характер апикального роста мицелия, время наступления фазы спороношения у всех тест-культур, а также образование меланина штаммом *Ulocladium* sp. 632.8 были одинаковыми как в опыте, так и в контроле во все сроки наблюдения.

Интенсивность обрастания грибами полимерных и металлических материалов, экспонированных в чашках Петри без питательной среды, при ГМП величиной не более 45 нТл в 10 из 18 случаев не менялась, в 7 происходила стимуляция грибного роста, и лишь в 1 случае он был подавлен. Более интенсивный рост в ГМУ по сравнению с геомагнитными условиями отмечался у смеси тест-культур на образцах алюминия и резины, у *A. ustus* 626.5 - на алюминии и резине, *P. chrysogenum* 633.8 и *P. rugulosum* 633.12 - только на резине, а у *P. spinulosum* 633.7.1 - только на алюминии. Снижение интенсивности роста в ГМУ наблюдали только у *P. rugulosum* 633.12 на образцах фторопласта.

Итак, алюминий и резина более подвержены обрастанию грибами в ГМУ, чем в геомагнитном поле, активность грибного обрастания фторопласта не менялась и только в случае с *P. rugulosum* 633.12 была интенсивнее в геомагнитном поле.

Полученные результаты позволяют сделать предварительный вывод об отсутствии практически каких-либо статистически значимых эффектов на жизнеспособность грибов (прорастание спор, размер колоний на питательной среде и т.д. на 4, 6 или 9 сутки) при воздействии ГМП интенсивностью не более 45 нТл. В то же время интенсивность роста микромицетов в ряде случаев заметно стимулировалась на поверхности образцов материалов в ГМП, в условиях ограниченной доступности питательных элементов (реальных условиях среды обитания).

Таким образом, можно предполагать, что развитие грибов на будущих лунных объектах может повысить вероятность технических и медицинских рисков, что показывает необходимость дальнейших работ в этой области.

Список литературы

1. Sinčák M., Sedlakova-Kadukova J. Hypomagnetic fields and their multilevel effects on living organisms //Processes. – 2023. – V. 11. – №. 1. – P. 282;
2. Novikova N.D., Pierson D.L., Poddubko S.V. et al. Microbiology of the International Space Station. In US and Russian cooperation in space biology and medicine / Ed. Sawin C.F., Hanson S.I., House N.G., Pestov D.I Reston, Virginia: American institute of aeronautics and astronautics. 2009. V. 5. 469 p;
3. Быстрова Е.Ю., Богомолова Е.В., Гаврилов Ю.М. и соавт. Влияние постоянного магнитного и экранированного и гео-

магнитного поля на развитие колоний микромицетов // Микология и фитопатология. 2009. Т. 43(5). С. 438–446;

5. 4. Панина Л.К., Богомолова Е.В., Гаврилова Ю.М., Дмитриев С.П., Доватор Н.А. Аномальный полярный рост мицелия в условиях «магнитного вакуума» // Микология и фитопатология. 2012. Т. 46(1). С. 81–85;

6. 5. Гудошников С.А., Венедиктов С.Н., Гребенщиков Ю.Б. и соавт. Экранирующая камера для ослабления магнитного поля

Земли на основе рулонных магнитных материалов // Измерительная техника. 2012. № 3, С. 58–61;

7. 6. ГОСТ 9.048. Изделия технические. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов.

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РАЗВИТИЕ ДРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ В УСЛОВИЯХ МОСКВЫ

Смирнова О. Г., Смирнов А. Н.
РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, Москва

Древостои в условиях мегаполисов подвержены значительному негативному влиянию экологических факторов – как природного, так и антропогенного характера [1]. Находясь в почти экстремальной среде, растения в настоящее время нередко усыхают. Из-за гнили древесины на фоне ветров деревья подвергаются отломам и вывалам. Периодически случаются падения деревьев на объекты городской инфраструктуры и особенно транспорта (рис. 1).



Рис. 1. Факт обрушения побегов каштана ложноконского на автомашину. Москва, 2023 г.

На фоне ослабления иммунного статуса деревьев в условиях Москвы на них активно развиваются древоразрушающие грибы, многие из них оказывают значительный вред (рис. 2, 3), [1–6].

Цель настоящего исследования – оценить влияние факторов, оказывающих влияние на иммунный статус древостоев в условиях г. Москва, на развитие древоразрушающих грибов, обычно происходящее по принципу сопряженных болезней.

Материалы и методы. Исследования насаждений пород липы, дуба, ясеня, конского каштана, тополя, кленов (ясенелистный, узколистный и др.), ивы, вяза и др. проводили в 2008–2024 гг. посредством фитосанитарного мониторинга [1, 2] на территории Лесная опытная дача (ЛОД) РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, Лосиногостовского острова и различных улиц города Москвы.

Результаты. В результате проведения фитосанитарного мониторинга выявлены следующие экологические факторы, ослабляющие иммунный статус древесных насаждений в условиях Москвы.

1. Рекреационная нагрузка. Показатель варьировал в значительных пределах, но максимальные показатели могли достигать более 100 человек в течение минуты в точках наблюдения. Максимальная рекреационная нагрузка нередко сопровождалась актами вандализма и

повреждения деревьев, от забивания гвоздей и проволоки, а также поджога до полного удаления деревьев путем их антропогенного отлома или вывала. Также сталкивались со случаями кражи декоративных кустарников и трав. По ходу повреждений деревья всех исследованных пород постепенно поражались широким спектром древоразрушающих грибов.



Рис. 2. Поражение бокового побега липы тиростромозом. Москва, 2022 г.

Рис. 3. Поражение дуба трутовыми грибами из рода *Phellinus*, просматривается развитие плодовых тел. Москва, 2014 г.

2. Автотранспорт. На протяжении последних лет это стало очень серьезной проблемой, в связи с чем государственную защиту растений в Москве недавно отнесли к ФГБУ «Автомобильные дороги». По всем показателям в Москве очень много машин, и их собственники не спешат с ними расставаться, напротив, автопарк лишь увеличивается. При этом машины некуда ставить, гаражные зоны в Москве ликвидируются. В этой связи автотранспорт связан с механическими и химическими нарушениями, ведущими к непосредственным (прямым и косвенным) уменьшениям иммунного статуса деревьев в Москве. Непосредственных исследований автотранспорта на микозы древостоев не проводили, но их негативный вклад не оспаривается и сомнению не подлежит.

3. Некачественный посадочный материал. Используют зарубежный крупномерный материал, характеризующийся высокой декоративностью, но не всегда фитосанитарно сертифицированный. Нередко такой материал несет микозы в латентном состоянии, которые проявляются после посадки и иммунитет деревьев в условиях Москвы с ними не справляется. Другой реали-

зудимый вариант – данные растения по той же причине аккумулируют местную фитопатогенную микобиоту [7, 8], активно поражаются и по принципу мостиков перезаражают соседние посадки, особенно близкородные. Сопряженное увядание листы древесных растений (СУЛДР) – пример такой фитосанитарной ситуации [9].

4. Нарушение сроков и техники посадки. Для каждой породы отработаны сроки оптимальной посадки. Между тем, в рамках технологий крупномерных посадок часто использовали зимние посадки, начиная со второй половины ноября, в промерзшую почву. Либо посадочный материал хранился прикопанным. Отсутствие микоризации саженцев может привести к сбоям иммунной системы, прежде всего функционирования корней. Нами отмечены случаи массовой гибели весной туи и ели (голубой и других разновидностей). Они сопровождалась значительным развитием грибов из комплекса бурого шютте, побурения хвои. Кроме того, при посадке зачастую допускали такое нарушение, как заглубление корневой шейки. У липы оно массово приводило к усугублению тиростромоза (как привезенного, так и местного), у клена наблюдали прогрессирование вертициллеза. Высадка крупномеров в зоны с ограниченной площадью питания и развития корневой системы вела к ослаблению растений и развитию на них микозов. Это касается многих современных домовых комплексов, где вписать крупномеры в ландшафт и инфраструктуру на самом деле возможным не представляется. В них зарегистрированы вспышки тиростромоза липы, представляющие не только очевидную фитосанитарную, но и возможную санитарную опасность. Определенно, это требует дальнейшего изучения [10].

5. Нарушения ухода. Уход – очень сложный агротехнический этап поддержания насаждений в условиях Москвы. Нарушения ухода могут иметь субъективный характер (связан с непосредственными ошибками обслуживающих озеленительных организаций) и независимый характер (связан с объективными причинами по работе смежных организаций, поддерживающих жизненно важные коммуникации города). Субъективные нарушения могут быть связаны с нарушением норм полива, внесения удобрений, проведения разных видов обрезки, кронирования и т.д. Непроведение обрезки и кронирования ясенелистных кленов и тополей может привести к резкому прогрессированию развития деструктивных и коррозионных ядрово-заболонных гнилей древесины [11]. Объективные нарушения ухода связаны с проведением дополнительных коммуникаций, внесением реагентов, разрушающих наледи. Последствия оказывают механическое действие на корневую систему и системное химическое действие на растения в целом. Рассмотренные нарушения открывают широкие возможности для развития широко спектра микозов.

6. Общее химическое загрязнение почвы и воздушной среды. Это комплексный фактор, представляющий собой сочетание рассмотренных выше факторов в самых различных сочетаниях. Не смотря на прекращение работы многих промышленных зон, Москва остается мощнейшим производственным центром, а также емкой логистической зоной, огромным складским комплексом. Все это блокирует иммунный статус и проявление жизнеспособности растений и открывает ворота для микозов. Здесь надо отметить, что надежды на то, что особо опасные патогены грибной природы (к примеру, возбудители тиростромоза липы) окажутся нетолерантны к загрязнению среды [12], не оправдались.

Проблемы с данными патогенами только усугубились [10].

7. Низкая эффективность защитных мероприятий. Эта ситуация возможна из-за того, что в Москве запрещено применять фунгициды первого и второго класса опасности, зачастую достаточно эффективные. Кроме того, для некоторых особо опасных возбудителей мер защиты в условиях мегаполисов до сих пор не отработано. Например, это касается офиостомовых грибов – возбудителей голландской болезни вязов [3-5, 11]. Так, в одной из локаций РГАУ-МСХА в 2003 г. было 14 вязов, сейчас их осталось 2, в сильно ослабленном состоянии из-за поражения данной болезнью. Остальные усохли и их удалили путем санитарных рубок.

8. Бобры. Бобры имеют статус защищаемых животных. Проводились активные эксперименты с акклиматизацией интродуцируемых канадских бобров при участии зоологов и зоозащитников. В Московской области проводимые нами фитосанитарные обследования показали, что деятельность канадских бобров привела к заболачиванию местности, уничтожению ручьев и малых рек. В Москве в экопарке Яуза заселение бобров к 2024 г. за период около года привело к фитосанитарным очагам характерного повреждения (комля похожа на заточенный карандаш) и обрушения деревьев, до 30 штук сразу (рис. 4, 5). Животные делали реальные попытки запрудить русло. Все это открывало возможность для развития корневых и комлевых гнилей древесины, формирования резерваторов самых различных древоразрушающих грибов.



Рис. 4. Массовые повреждения деревьев в виде погрызов вдоль береговой линии реки Яуза. Москва, Медведково, март 2024 г.

Полученные наблюдения ставят вопрос не защиты данных животных, а борьбы с ними, как со злостными грызунами-интродуцентами. Их отлов и переселение в Московскую область проблемы не решит, они там ока-

зывают существенный вред и довольно активно размножаются.



Рис. 5. Комлевая часть стволов похожа на заточенный карандаш. Береговая зона реки Яузы, Москва, Медведково, март 2024 г.

9. Общие метеорологические факторы. Опасные метеорологические явления в виде ледяного дождя, обширные снегопады и т.д. оказывают значительное действие на древостои [11]. Накладываясь на урбанизированные факторы, общие метеорологические факторы могут оказать синергетическое действие на иммунную систему древесных растений в Москве

Заключение. Микозы представляют серьезную угрозу для древостоев и лесных насаждений Москвы, емкий дестабилизирующий фактор первичного и вторичного характера. Для достижения экологической безопасности Москвы, реализации современных программ по созданию экопарков, оздоровлению набережных рек необходимо проведение комплексных программ. Они должны регулировать микозы деревьев, обеспечивать надежную защиту от их вспышек

Список литературы

1. Смирнова О. Г. Экологическая и фитосанитарная оценка лесорастительных условий древостоев на территории Лесной опытной дачи РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева. – Автореферат диссертации на соискание к.б.н. – М.:РГАУ-МСХА, 2010. – 24 с.
2. Smirnova O. G., Smirnov A. N. Fungal diseases of tree stands under urbanized conditions of Moscow region // Proceedings for Natural Science, Matica sprska, 2013. – № 124. – P. 241-247.
3. Воробьева М. В. Фитопатология. Некрозные, сосудистые и раковые болезни древесных растений. Екатеринбург:Электронный архив УГЛТУ, 2018. 26 с.
4. 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.
5. Черемисинов Н. А., Негруцкий С. Ф., Лешковцева И. И. Грибы и грибные болезни деревьев и кустарников. М: «Лесная промышленность», 1970. 391 с.
6. Журавлев И. И., Крангауз Р. А., Яковлев В. Г. Болезни лесных деревьев и кустарников. М: «Лесная промышленность», 1974. – 160 с.
7. 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.
8. Смирнов А. Н., Кузнецов С. А., Смирнова О. Г. Развитие эпифитотий на близкородственных видах растений-хозяев // Доклады ТСХА. – 2010. – Вып. 282. – С. 292-305.
9. Смирнова О. Г., Смирнов А. Н. Микозы как причина сопряженного увядания листьев древесных растений (СУЛДР) в условиях г. Москва // Успехи медицинской микологии. – 2019. – Т. 20. – С.600-606.
10. Смирнов А. Н., Смирнова О. Г. Тиростромоз – опаснейшее заболевание липы в условиях Москвы. Современная микология в России. Материалы пятого съезда микологов России, Москва, 2022. – Том 9. – С.317-320.
11. Семенкова И. Г., Соколова Э. С. Фитопатология. М:Издательский центр «Академия», 2003. – 480 с.
12. Кузьмичев Е. П., Шленская Н. М., Колганихина Г. Б. Тиростромоз липы и вяза в городских и лесных фитоценозах. Лесной журнал. 1995; Т. 4-5. – С. 29-36.

ДОПОЛНЕНИЕ К ПЕРЕЧНЮ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ СВЕТЛОГОРСКОГО РАЙОНА ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ БЕЛАРУСИ

Свирид А.П., Храмцов А.К.

Белорусский государственный университет, Минск

Фитопатогенные микроскопические грибы и грибоподобные организмы широко распространены как в Беларуси, так и во всем мире и являются неотъемлемой частью экосистем. Паразитируя на дикорастущих и культивируемых растениях, они нередко вызывают массовые заболевания растений – эпифитотии. Изучение разнообразия фитопатогенных микромикотетов определенных территорий представляет

собой как теоретический интерес, так и имеет практическую значимость, поскольку дает возможность наметить оптимальные пути подавления фитопатогенов и сознательно влиять на формирование агрофитоценозов для получения высокого хозяйственно-го эффекта.

Степень изученности разнообразия фитопатогенных микромикотетов отдельных регионов Беларуси оста-

ется невысокой. К таким территориям принадлежит Светлогорский район Гомельской области, где наблюдается сильное техногенное воздействие на окружающую биоту (на территории района находятся такие предприятия, как ОАО «СветлогорскХимволокно», ОАО «Светлогорский целлюлозно-картонный комбинат», ОАО «Светлогорский завод железобетонных изделий и конструкций» и др.). Так, по данным Гербария Института экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича (MSK-F, MSK-L) НАН Беларуси для территории Светлогорского района указывается 59 видов фитопатогенных микромицетов [1]. С учетом микроскопических грибов и грибоподобных организмов, поражающих растения повсеместно в республике, количество фитопатогенных микромицетов для данного района может оцениваться в 148 видов [1]. В микологической коллекции Гербария БГУ (MSKU-F) хранятся образцы 103 видов фитопатогенных микромицетов, собранных на территории Светлогорского района (коллектор И.С. Гирилович). В монографиях И.С. Гириловича, посвященных грибоподобным организмам порядка Peronosporales и мучнисторосяным грибам Беларуси, для территории Светлогорского района указываются микромицеты соответственно 11 и 52 видов [2, 3].

Исследования, проведенные нами в 2021-2024 гг. с использованием маршрутного и лабораторного методов, позволили установить для Светлогорского района 53 вида фитопатогенных микромицетов, которые ранее в литературе для данной территории Беларуси не указывались [1-4]. Ниже приводим перечень выявленных патогенов и их хозяев – цветковых растений, принадлежащих к 41 виду.

OOMYCOTA: *Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & de Toni на *Vitis vinifera* L. ASCOMYCOTA: *Podosphaera mors-uvae* (Schwein.) U. Braun & S. Takam. на *Ribes nigrum* L.; *P. pannosa* (Wallr.) de Bary на *Rosa* sp.; *Erysiphe arcuata* U. Braun, V.P. Heluta & S. Takam. на *Carpinus betulus* L.; *E. berberidis* DC. на *Berberis thunbergii* DC.; *E. corylacearum* U. Braun & S. Takam. на *Corylus avellana* L.; *E. elevata* (Burrill) U. Braun & S. Takam. на *Catalpa bignonioides* Walt.; *E. necator* Schwein. на *Vitis vinifera* L.; *E. symphoricarpi* (Howe) U. Braun & S. Takam. на *Symphoricarpos albus* (L.) S.F. Blake; *E. syringae-japonicae* (U. Braun) U. Braun & S. Takam. на *Syringa vulgaris* L.; *E. vanbruntiana* (W.R. Gerard) U. Braun & S. Takam. на *Sambucus racemosa* L.; *Golovinomyces asterum* (Schwein.) U. Braun на *Solidago gigantea* Ait.; *Sawadaea tulasnei* (Fuckel) Homma на *Acer platanoides* L.; *Truncatella truncata* (Lév.) Steyaert на *Cotoneaster lucidus* Schltdl. BASIDIOMYCOTA: *Naohidemycus vaccinii* (Jörst.) S. Sato, Katsuya & Y. Hirats. ex Cummins & Y. Hirats. на *Vaccinium myrtillus* L.; *Pucciniastrum epilobii* G.H. Otth на *Epilobium palustre* L.; *Cronartium pini* (Willd.) Jörst. на *Paeonia suffruticosa* Andrews; *Melampsora salicina* Desm. на *Salix acutifolia* Willd.; *M. populnea* (Pers.) P. Karst. на *Populus x canadensis* Moench и *P. tremula* L.; *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter на *Pyrus communis* L. DEUTEROMYCOTA: *Ramularia didymarioides* Briard & Har. на *Silene vulgaris* (Moench) Garcke; *R. grevilleana* (Tul. & C. Tul. ex Oudem.) Jörst. на *Fragaria x magna* Thuill.; *Ramularia* sp. на *Linaria* sp.; *Alternaria solani* Sorauer на *Solanum lycopersicum* L. (*Lycopersicon esculentum* Mill.); *A. capsici-annui* Sävul. & Sandu на *Capsicum annuum* L.; *A. grossulariae* Jacz. на *Ribes nigrum* L.; *Passalora fulva* (Cooke) U. Braun & Crous на *Solanum lycopersicum* L. (*Lycopersicon esculentum* Mill.); *P. dubia* (Riess) U. Braun на *Chenopodium album* L.; *Cercospora microsora* Sacc. на *Tilia cordata* Mill.; *Penicillium*

glaucum Link. и *Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fuckel на *Malus domestica* Borkh.; *Cladosporium cucumerinum* Ellis & Arthur на *Cucumis sativus* L.; *Coryneum foliicola* Fuckel на *Amelanchier spicata* (Lam.) C. Koch; *C. sorbi* Peck на *Sorbus aucuparia* L.; *Cylindrosporium betulae* Davis на *Betula pendula* Roth; *Marssonina rosae* (Lib.) Died. на *Rosa* sp.; *Colletotrichum* sp. на *Saponaria officinalis* L.; *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. на *Malus domestica* Borkh.; *Phyllosticta* spp. на *Vaccinium myrtillus* L., *Prunus* sp., *Betula pendula* Roth., *Oenothera biennis* L.; *Ph. briardii* Sacc. на *Malus sylvestris* (L.) Mill.; *Ph. mali* Prill. & Delacr. на *M. domestica* Borkh.; *Ph. fuscozonata* Thüm. на *Rubus idaeus* L.; *Ph. prunicola* Opiz ex Sacc. на *Prunus virginiana* L.; *Ph. ribiseda* Bubák & Kabát на *Ribes nigrum* L.; *Septoria oenotherae* Westend. на *Oenothera biennis* L.; *S. pyricola* Desm. на *Pyrus communis* L.; *S. stenactidis* Vill на *Phalacrocoma annum* (L.) Dumort.; *S. virgaureae* Desm. на *Solidago virgaurea* L.; *Septoria didyma* Fuckel на *Salix acutifolia* Willd.; *Septoria salicicola* (Fr.) Sacc. на *Salix fragilis* L.

Опасность для растений Светлогорского района представляют чужеродные для Беларуси виды и внутривидовые формы патогенных микроскопических грибов и грибоподобных организмов, внедряющиеся в антропогенно нарушенные экосистемы. Микромицеты-инвайдеры из года в год вызывают поражение растений в фитоценозах вышеуказанного района, а некоторые могут рассматриваться как вполне адаптированные к местным условиям, потенциально способные привести к эпифитотиям [5-7].

Из общего числа фитопатогенных микромицетов (90 видов), выявленных нами в Светлогорском районе, чужеродными для территории Беларуси явились представители 23 видов: *Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & de Toni на *Vitis vinifera* L.; *Podosphaera mors-uvae* (Schwein.) U. Braun & S. Takam. на *Ribes nigrum* L.; *Erysiphe arcuata* U. Braun, V.P. Heluta & S. Takam. на *Carpinus betulus* L.; *E. berberidis* DC. на *Berberis thunbergii* DC.; *E. elevata* (Burrill) U. Braun & S. Takam. на *Catalpa bignonioides* Walt.; *E. howeana* U. Braun на *Oenothera biennis* L.; *E. necator* Schwein. на *Vitis vinifera* L.; *E. palczewskii* (Jacz.) U. Braun & S. Takam. на *Caragana arborescens* Lam.; *E. symphoricarpi* (Howe) U. Braun & S. Takam. на *Symphoricarpos albus* (L.) S.F. Blake; *E. syringae-japonicae* (U. Braun) U. Braun & S. Takam. на *Syringa vulgaris* L.; *E. vanbruntiana* (W.R. Gerard) U. Braun & S. Takam. на *Sambucus racemosa* L.; *E. corylacearum* U. Braun & S. Takam. на *Corylus avellana* L.; *Golovinomyces asterum* var. *asterum* (Schwein.) U. Braun на *Aster novae-angliae* L.; *G. cucurbitacearum* (R.Y. Zheng & G.Q. Chen) Vakal. & Kliron. на *Cucurbita pepo* L.; *G. magnicellulatus* (U. Braun) V.P. Heluta на *Phlox paniculata* L.; *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter на *Pyrus communis* L.; *Cercospora beticola* Sacc. на *Beta vulgaris* L.; *Alternaria solani* Sorauer и *Passalora fulva* (Cooke) U. Braun & Crous на *Solanum lycopersicum* L. (*Lycopersicon esculentum* Mill.); *Cladosporium cucumerinum* Ellis & Arthur на *Cucumis sativus* L.; *Phyllosticta* sp. и *Septoria oenotherae* Westend. на *Oenothera biennis* L.; *S. stenactidis* Vill на *Phalacrocoma annum* (L.) Dumort.

Полученные данные могут быть использованы для инвентаризации микобиоты Беларуси, планирования мероприятий по контролю вредоносных патогенов в агрофитоценозах, написании пособий по фитопатогенным микромицетам, преподавании дисциплин микологического и фитопатологического профиля. Сведения о чужеродных для Беларуси ви-

дах фитопатогенных микромицетов, выявленных на территории Светлогорского района, будут полезны для анализа и оценки распространения чужеродных микромицетов в нашей стране, расширения круга их хозяев, что необходимо принимать во внимание при защите растений от болезней грибной этиологии.

Исследования выполнены в рамках научно-исследовательской работы «Инвазивные фитопатогенные грибы, грибоподобные организмы и беспозвоночные животные на культивируемых и близкородственных дикорастущих растениях: статус в сообществах, распространение, диагностика» (№ ГР 20211704).

Авторы выражают благодарность доценту кафедры ботаники биологического факультета БГУ В.Н. Тихомирову за помощь при определении растений.

Список литературы

1. Гапиев О.С., Беломесечев Д.Б., Кобзарь Н.Н. и соавт. Макромицеты, микромицеты и лихенизированные грибы Беларуси. Гербарий Института экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича (MSK-F, MSK-L). Минск: ИВЦ Минфина, 2006: 501 с.
2. Гирилович И.С. Грибоподобные организмы (порядок Peronosporales) Беларуси. Минск: БГУ, 2013: 183 с.
3. Гирилович И.С. Мучнисторосяные грибы (порядок Erysiphales) Беларуси. Минск: БГУ, 2018: 279 с.
4. 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.
5. Поликсенова В.Д., Джус М.А., Храмцов А.К. и соавт. Чужеродные растения и фитопатогенные микромицеты в Беларуси: реальная и потенциальная опасность. Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2. Хим., биол., геогр. 2016; 3: 60-67.
6. Поликсенова В.Д., Храмцов А.К. Чужеродные фитопатогенные микромицеты Беларуси. Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2. Химия. Биология. География. 2015; 3: 43-48.
7. Дубовик Д.В., Дмитриева С.А., Ламан Н.А. и соавт. Черная книга флоры Беларуси: чужеродные вредоносные растения. Минск: Беларуская навука, 2020: 407 с.

ПОЧВЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ – АКТИВАТОРЫ ПРОЦЕССА ДЕГРАДАЦИИ ПОЛИМЕРОВ

Тертышная Ю.В.^{1,2}, Леонова И.Б.²

¹ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

² Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва

Полимеры и полимерная упаковка вызывают все большую озабоченность экологов по всему миру. В первую очередь это связано с катастрофическим загрязнением мирового океана и почв [1]. Создание биоразлагаемых полимеров и полимерных материалов призвано решить экологическую проблему пластиковых отходов [2]. Обилие публикаций о создании и использовании биопластиков за последнее десятилетие значительно возросло [3-5]. Однако производство биопластиков составляет 1% от общего количества пластика, производимого в мире, а это более 300 миллионов тонн [6].

Биодеградация различных классов полимеров, в том числе, биопластиков осуществляется микробиотой – бактериями и грибами, которые являются наиболее распространенными микроорганизмами в любой экосистеме, включая свалки, речные и озерные донные отложения, осадки сточных вод, компост, лесную и луговую почву, садовую и сельскохозяйственную почву. Известно, что микробиота способна разрушать как природные, так и синтетические полимеры. Проведенные исследования демонстрируют, что существуют виды грибов, которые обладают способностью разрушать полимерные материалы [7, 8]. Такие виды грибов или их метаболические ферменты могут быть использованы в качестве активных деструкторов для деградации полимерных биоматериалов, сложные компоненты которых разрушаются до простых соединений и используются в качестве источника питания [9-11].

Микромицеты подразделяются на группы, поведение и активность которых зависит от условий окружающей среды (таблица 1).

Особенности вышеперечисленных групп паразитов. Ксерофилы в ходе эволюции научились сохранять воду внутри организма, в частности они могут использовать метаболическую воду, образующуюся благодаря окислению липидов. Одним из ярких примеров присутствия микромицетов-деструкторов среди ксерофильных грибов являются биоповреждения книг

(целлюлозы) и архивных документов в библиотеках и спецхранилищах. Присутствие ксерофилов отмечается также на музейных экспонатах.

Табл. 1. Группы микромицетов – деструкторов полимерных материалов.

Название группы	Микромицеты (род или вид)	Особенность группы микромицетов
Ксерофилы	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>Penicillium aurantiogriseum</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. brevicompactum</i> , <i>Eurotium amstelodami</i>	Способны выживать в засушливых местах, при небольшом количестве влаги или в условиях пониженной влажности
Термофилы	<i>Thermothelomyces thermophila</i> , <i>Thermomyces thermophilus</i> и <i>Mycothermus thermophilus</i> . (<i>Aspergillus</i> , <i>Thermomyces</i> , <i>Myceliophthora</i> , <i>Thermomucor</i> и <i>Candida</i>)	Выживают и проявляют активность при относительно высоких температурах от 45 до 60 °С. Обитатели тропиков и субтропиков.
Олиготрофы	<i>Mortierella</i> , <i>Geomyces</i> , <i>Cephalosporium</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Mucor</i> , <i>Fusarium</i> и <i>Trichoderma</i>	Способны существовать и проявлять активность при низком содержании питательных веществ в субстрате

Термофилы обладают особым составом клеточных мембран, который содержит липидно-белковый комплекс, включающий насыщенные жирные кислоты с разветвленной углеродной цепью. Благодаря этому происходит поддержание ригидности клетки и нативной структуры мембраны в условиях повышенной температуры. Термофильные микромицеты также используют в некоторых отраслях промышленности благодаря особенностям их ферментов, которые при высоких температурах проявляют повышенную активность, что позволяет влиять на некоторые технологические процессы.

Микроорганизмы-олиготрофы приспособились к жизни в степях, пустынях и других засушливых местах благодаря способности более эффективного поглощения питательных веществ, а также их эффективного хранения. К данной группе относится вид *Trichoderma viride* и другие представители рода *Trichoderma*. Также в различных почвах наблюдается большое количество мукоровых грибов, таких как *Mucor*, *Absidia*, *Mortierella* и *Rhizopus*. Грибы, входящие в группу олиготрофов, часто выделяют с различных видов материалов и изделий, в том числе полимерных, подвергшихся биоповреждениям [12].

В проведенном исследовании изучался процесс биопоражения и деградации полимеров в почве, приготовленной по ГОСТ 9.060-75 (ASTM D 5988-12). Емкости с грунтом находились в лаборатории при температуре воздуха 20 ± 3 °C. Полимерные образцы вертикально погружали в грунт и выдерживали в течение определенного времени при поддержании стандартных условий (влажность 60-65%; pH=7.0–7.3) с периодическим контролем специальным почвенным щупом.

Для идентификации почвенных микромицетов в ходе эксперимента использовали предметные стекла с нанесенной на них средой Чапека (рис. 1а). После 10-15 суток стекла с выросшими плесневыми грибами были вынуты и исследованы (рис. 1б).

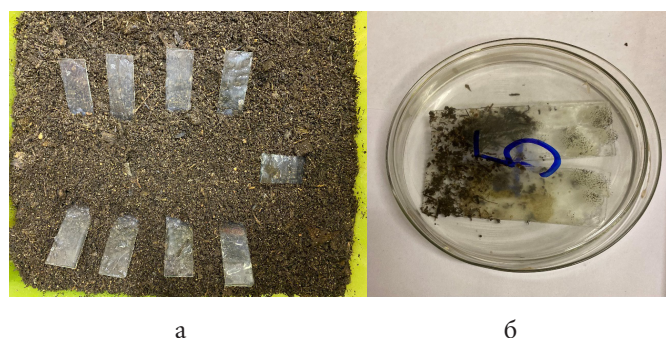


Рис. 1. Используемая почва (а) и предметные стекла с мицелиями плесневых грибов (б).

В результате эксперимента удалось идентифицировать наличие в грунте следующих родов плесневых грибов: *Aspergillus* (рис. 2а), *Mucor* (рис. 2б) и *Penicillium*.

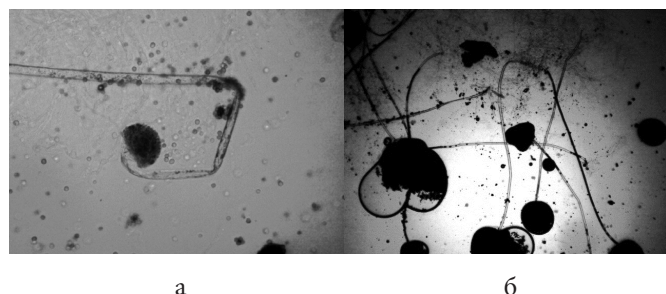


Рис. 2. Микромицеты родов *Aspergillus* (а) и *Mucor* (б).

В работе изучалась биodeградация микробиотой почвы пленочных образцов синтетического полиолефина – полиэтилена низкой плотности (ПЭНП) и биodeградируемых пластиков – поли-3-гидроксibuтирата (ПГБ) и полилактида (ПЛА), которые относятся к классу линейных полиэфигов.

Исходными полимерами для композиций ПЛА – ПЭНП и ПГБ – ПЭНП служили ПЭНП марки 15803-

020 (Россия), ПЛА марки 4032D производства компании Nature works (США) и ПГБ марки P300 фирмы Biomer (Германия) в виде тонкодисперсного порошка с плотностью 1.25 г/см^3 . Полимерные композиции получали путем предварительного смешения в смесителе Brabender при $T = 180 \pm 2$ °C. Измельченный материал подвергали прессованию при 180 ± 2 °C с помощью гидравлического пресса ПРГ-10 с электронным блоком для нагрева плит. Содержание ПЛА и ПГБ в смеси с ПЭНП было 50 и 30 мас%, также были изготовлены пленочные образцы 100% ПЭНП, ПГБ и ПЛА. Предварительное смешение полимеров осуществляли на лабораторных обогреваемых микровальцах ВК-6.

Инкубация в почве в течение 100 суток значительно отразилась на структуре и свойствах 100 % ПГБ. Этот полимер наиболее подвержен биопоражению микробиотой почвы, в том числе плесневыми грибами. Наименее чувствителен к микроорганизмам ПЭНП, что вполне ожидаемо в случае синтетического полиолефина. Нужно отметить, что в литературе появляются сообщения о выделенных штаммах бактерий и грибов, способных развиваться на полиэтилене. Однако такие микроорганизмы столь специфичны и уникальны, что говорить о возможности повсеместного поражения полиэтилена или полипропилена в почве преждевременно.

Композиционные материалы составов 50ПЛА/50ПЭНП и 50ПГБ/50ПЭНП заняли промежуточные позиции, но образцы, содержащие ПГБ активнее подвергались деградации. Структура и свойства 100% ПЭНП практически не изменилась, а 100% ПЛА помутнел, что свидетельствовало о изменении химической структуры.

Выделенные микромицеты родов *Aspergillus*, *Mucor* и *Penicillium* в составе почвенной микробиоты подтвердили индифферентность по отношению к ПЭНП и определенную активность в отношении изучаемых биопластиков ПГБ и ПЛА.

Таким образом, можно заключить, что после биodeградации в почве приготовленной по ГОСТу 9.060-75 в течение 100 суток при комнатной температуре наблюдались значительные изменения в структуре полимерных материалов, а именно ухудшение прозрачности, рыхлость поверхности, изменение цвета, появление пятен. Менялись также теплофизические и спектральные характеристики полимеров, которые были определены методами ДСК и ИК (МНПВО) соответственно. В ИК-спектрах образцов после поражения микробиотой почвы изменялась интенсивность характеристических пиков функциональных групп, а также появлялись новые рефлексы.

Список литературы

1. Тertyшная Ю.В., Шибряева Л.С. Биоразлагаемые полимеры: перспективы их масштабного применения в промышленности России. Экология и промышленность России. 2015. Т. 19. № 8. С. 20-25.
2. Xiao L., Wang B., Yang G., Gauthier M. Poly(lactic acid)-based biomaterials: synthesis, modification and applications. Biomed. Sci. Eng. Technol. 2012. 247-282.
3. Gonzalez-Lopez M.E., Campo A.S., Robledo-Ortiz J.R., Arellano M., Perez-Fonseca A.A. Accelerated weathering of poly(lactic acid) and its biocomposites: A review. Polym. Degrad Stab. 2020. 179. 109290.

4. Podzorova M.V., Tertyshnaya Yu.V., Popov A.A. Eco-friendly polymer materials for agricultural purposes. MATEC Web of Conferences. 2019. 298. 00130.
5. Varyan I.A., Podzorova M.V., Tertyshnaya Y.V., Kolesnikova N.N., Popov A.A. The Effect of the Nature of Biodegradable Components on Biodegradability of Composites Based on Polyethylene. Polymer Science, Series D. 2023. 16(2), P. 477–482.
6. Ciriminna R., Pagliaro M., Biodegradable and compostable plastics: a critical perspective on the dawn of their global adoption. ChemistryOpen. 2020. 9. 8–13.
7. Тertyшная Ю.В., Подзорова М.В. Разнообразие микроорганизмов – деструкторов биопластиков. Успехи медицинской микологии. 2023. Т. 25. С. 153–158.
8. Kim M-N., Lee A-R., Yoon J-S., Chin I-J. Biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate), Sky-Green and Mater-Bi by fungi isolated from soils. Europ. Polym. J. 2000. V. 36(8). P. 1677–1685.
9. Pranamuda H., Tokiwa Y., Tanaka H. Polylactide degradation by an Amycolatopsis sp. Appl. Environ. Microbiol. 1997. 63. 1637–1640.
10. Adhikari D., Mukai M., Kubota K., Kai T., Kaneko N., Araki K.S., Kubo M. Degradation of Bioplastics in Soil and Their Degradation Effects on Environmental Microorganisms. J. Agricult. Chem. and Environ. 2016. V. 5(1).
11. Морозкина Е.В., Слуцкая Э.С., Федорова Т.В. и др. Экстремофильные микроорганизмы: биохимическая адаптация и биотехнологическое применение (обзор). Прикладная биохимия и микробиология. 2010. Т. 46. № 1. С. 5–20.
12. Кривушина А.А., Горяшник Ю.С. Способы защиты материалов и изделий от микробиологического поражения (обзор). Авиационные материалы и технологии. 2017. № 2 (47). С. 80–86.

MACROTYPGULA PHACORRHIZA В БИОЛОГИЧЕСКОЙ БОРЬБЕ ПРОТИВ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СНЕЖНОЙ ПЛЕСЕНИ МНОГОЛЕТНИХ ТРАВ: MICRODOCHIUM NIVALE И TYPHULA ISHIKARIENSIS

Ткаченко О.Б.¹, Тазина С.В.¹, Лангаева Н.Н.¹, Демидова А.П.²

¹ Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН (ГБС РАН), Москва

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

Научный проект, поддержанный РНФ № 24-26-00078 «Регуляция численности криофильных возбудителей снежной плесени озимой пшеницы и многолетних злаковых трав психрофильным биоагентом» в этом году, направлен на решение научной проблемы экологизации защиты растений биологическим методом контроля снежной плесени, вызываемой низкотемпературными патогенными грибами *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett и *Typhula ishihariensis* S. Imai под снежным покровом, при использовании низкотемпературного гриба-антагониста *Macrotypgula phacorrhiza* (Reichard) Olariaga, Huhtinen, Læssøe, J.H. Petersen & K. Hansen (Olariaga et al., 2020).

Этот приём биометода при помощи *M. phacorrhiza* (син. *Typhula phacorrhiza* (Reichard) Fr.) был разработан в Канаде (Burpee et al. 1987; Lawton, Burpee, 1990) и Японии (Matsumoto, Tajimi, 1992). Причём действие биометода могло продолжаться в течение 3-х сезонов (Wu et al., 1998), и даже 5-ти сезонов (Hsiang et al., 2009), что, конечно, невозможно проверить в рамках краткосрочных грантов. Положительная попытка использовать штамм гриба на озимой пшенице против *T. ishihariensis* в Москве одним из авторов тезисов (Тазина, 2005), по которой была защищена кандидатская диссертация. Однако, изолят не был сохранён, метод не был официально зарегистрирован.

Опыт был поставлен на райграсе пастбищном (*Lolium perenne* L.) сорта: 'Mathilde', 'CSI' и 'RPR' и мятлике луговом (*Poa pratensis* L.) сорта: 'Balin', 'My Holiday Lawn' (MHL) и 'Blue Chip' в 4-х кратной повторности. В опыте использовали пластмассовые горшки (19 см диам.), норма посева из расчёта 30 г/м².

Опыт был заложен в климатических условиях города Москва, в ГБС имени Н.В. Цицина РАН. Климат характеризуется тёплым летом, умеренно холодной зимой с

устойчивым снежным покровом и хорошо выраженными переходными сезонами.

Норма среднемесячной температуры самого тёплого месяца июля составляет 19.7°C. Температура воздуха самого холодного месяца – января: -6.2°C. Первая половина зимы заметно теплее второй, наиболее холодное время года сдвинуто на вторую половину января и начало февраля. Среднеголетняя сумма осадков составляет 713 мм. С колебанием в отдельные годы примерно от 270 до 900 мм. Две трети осадков в году выпадает в виде дождя, одна треть – в виде снега. В тёплую часть года преобладают дожди средней интенсивности, хорошо увлажняющие почву. Общий радиационный баланс — 27,5 ккал/см² в год. Около половины тепла поступает в конце весны и летние месяцы. Средняя продолжительность вегетационного периода 156–180 дней (Погода и..., 2024).

Устойчивый снежный покров образуется обычно в конце ноября. В 2023 году он сформировался в результате мощных снегопадов, выпавших как в третьей декаде ноября, так и в первой декаде декабря. Средняя зимняя температура в Москве составила -6,5°C. Холоднее всего было в январе — в среднем -10,1°C, но это почти на 4°C выше нормы. Морозный рекорд зафиксирован метеостанцией столицы «Москва, ВДНХ» 4 января — -27°C. Самый тёплый день — 28 февраля, +5,4 °C. К концу зимы высота снежного покрова достигла в среднем 30–45 см.

При разработке биометода использовали заражённое простерилизованное в автоклаве зерно пшеницы (режим стерилизации – давление 1 Атм., 40 минут) низкотемпературным *M. phacorrhiza*, выделенном весной с диких Роасае в опытном хозяйстве «Снегири» (Истринский р-н, Московская область) в 2022 г. и инфекционный фон (возб. розовой – *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett и крапчатой – *Typhula*

ishikariensis S. Imai снежных плесеней). Для заражения были подготовлен инокулом при соотношении объёмов воды и зерновок (1:1). Грибами *T. ishikariensis* и *M. nivale* для каждого возбудителя заражали стерильные зёрна ячменя в колбах, энергично их встряхивали и инкубировали в помещении холодильной камеры (Sanio Medicool, Япония) в течение трёх месяцев, поддерживая температуру + 10°C. Норма внесения инокулома при создании инфекционного фона – 200 г/м². В пересчёте на один горшок – 5 г. Предполагаемые биоагенты и инфекционный фон на высаженные травы вносили в горшки одновременно.

Весной, в конце марта 2024 года после таяния снега определяли эффективность биологического метода в подавлении снежной плесени и его влияние на рост и развитие райграса пастбищного и мятлика лугового. К сожалению, растения мятлика лугового подверглись нападению ржавчины *Puccinia poae-nemoralis* G.A. Otth из-за находящегося рядом промежуточного хозяина барбариса обыкновенного (*Berberis vulgaris* L.) (Tronsmo, 2011).

В результате проведенных исследований было выявлено влияние грибов *T. ishikariensis* и *T. phacorrhiza* на газонные травы.

Поражение райграса пастбищного составило от 35 до 65 %, мятлика лугового – от 25 до 50 %.

В то же время поражение трав в вариантах с внесением гриба-антагониста (*M. phacorrhiza*) было заметно ниже. На райграсе – до 20 % на всех трёх сортах, на мятлике – до 15 %.

Список литературы

1. Olariaga I., Huhtinen S., Laessøe Th. et al. Phylogenetic origins and family classification of typhuloid fungi, with emphasis on Ceratellopsis, Macrotyphula and Typhula (Basidiomycota). Stud. Mycol. 2020. 96:155-184. DOI: 10.1016/j.smyco.2020.05.003
2. Durpee L.L., Kaye L.M., Goulty L.G., Lawton M.B. Suppression of gray snow mold on creeping bentgrass by isolate of Typhula phacorrhiza. Plant Disease. 1987. 71:97-100. DOI: 10.1094/PD-71-0097
3. Lawton M.B., Burpee L.L. Effect of rate and frequency of application of Typhula phacorrhiza on biological control of Typhula blight of creeping bentgrass. Phytopathology. 1990. 80:70-73. DOI: 10.1094/Phyto-80-70
4. Matsumoto N., Tajimi A. Biological control of Typhula ishikariensis of creeping bentgrass. Japanese Journal of Phytopathology. 1992. 58(5): 741-751. DOI: 10.3186/jjphytopath.58.741
5. Wu C., Hsiang T., Yang L., Liu L.X. Efficacy of Typhula phacorrhiza as biocontrol agent of grey snow mold on creeping bentgrass. Can. J. Bot. 1998. 76:1276-1281. DOI: 10.1139/B98-114
6. Hsiang T., Wu C., Cook S. Residual efficacy of Typhula phacorrhiza as biocontrol agent of grey snow mold on creeping bentgrass. Can. 1999. 21(4):382-387. DOI: 10.1080/0706066990951175
7. Погода и климат. Климатический мониторинг [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.pogodaiklimat.ru/monitor.php>. – Режим доступа: свободный. (Дата обращения - 29.02.24)
8. Тазина С. В. Обоснование защиты озимых зерновых культур от инфекционного выпадения растений. Автореферат канд. биол. наук. Спец. 06.01.11 – защита растений. РГАУ-МСХА, 2005. 20 с.
9. Tronsmo A.M. Resistance of the rust fungus Puccinia poae-nemoralis in Poa pratensis induced by low-temperature hardening. Can. J. Bot. 2011. 62(12):2891-2892. DOI: 10.1139/b84-386

ГРИБЫ РОДА *TRICHODERMA*/HYPOCREA – АГЕНТЫ ПЛЕСНЕВОГО ПОРАЖЕНИЯ ПРИ ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ

Тригубович А.М.¹ Гончарова И.А.²

¹Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

²Белорусский НИИ документооборота и архивного дела, Минск

Грибы рода *Trichoderma* Pers. в настоящее время привлекают внимание исследователей благодаря их широкой распространенности и практической значимости. Виды *Trichoderma* являются продуцентами ферментов, используемых в промышленности, на основе грибов данного рода получают препараты для биологического контроля болезней и стимуляции роста растений [1]. Некоторые виды *Trichoderma* паразитируют на грибах, выращиваемых промышленным способом [2]. В условиях повышенной влажности грибы рода *Trichoderma* колонизируют строительные материалы, формируя очаги плесневого поражения, оказывающие негативное воздействие на здоровье людей [3].

Род *Trichoderma* является анаморфной стадией аскомицетов рода *Hypocrea*, телеоморфы которого обычно можно встретить в лесу на гниющей древесине. Систематическое положение рода *Hypocrea*/*Trichoderma* в настоящее время является предметом дискуссий. Описано более 200 видов *Hypocrea*/*Trichoderma*, но лишь часть видов, идентифицированных как *Trichoderma*,

являются анаморфами рода *Hypocrea*, другие относят к несовершенным грибам [4].

Уникальным местом присутствия на одном объекте представителей анаморфной и телеоморфной стадий *Trichoderma*/*Hypocrea* являются очаги плесневого поражения в помещениях амбарного типа с глинобитными полами Белорусского государственного музея народной архитектуры и быта (БГМНАиБ), периодически появляющиеся в холодное время года (поздней осенью, ранней весной, при зимних оттепелях).

При исследовании микобиоты очагов биоповреждения БГМНАиБ таксономическую принадлежность *Trichoderma* определяли как по культурально - морфологическим свойствам [5], так и молекулярно-генетическими методами с использованием универсальных праймеров, *Hypocrea* – только молекулярно-генетическими методами [6].

Для выделения геномной ДНК грибов применяли лизирующий буфер содержащий 1% ЦТАБ + 2% ДСН в сочетании с инкубированием при температуре 65°C в течение 2 ч. Депротеинизацию полученного лизата

проводили смесью хлороформ : изоамиловый спирт (24:1). Нуклеиновые кислоты осаждали изопропанолом, отмывали в 70%-ном спирте, осадок растворяли в ТЕ буфере. Для удаления РНК в каждую пробирку добавляли 0,5 мкл РНКазы А (10 мг/мл) и инкубировали в течение 30 мин при 37°C. Полученные препараты ДНК после очистки использовали для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР). Состав реакционной смеси: 2,5х ПЦР-буфер со смесью дезоксинуклеотидтрифосфатов – 8 мкл, 4 мМ, раствор каждого праймера – 2 мкл, ДНК-матрица (50 нг/мкл) – 1 мкл, Rfu-полимеразы (5 ед/мкл) – 1 мкл, вода – до 20 мкл. Для получения последовательностей целевых фрагментов ДНК ITS1–ITS4 и NS1–NS4 использовали следующие праймеры: ITS1 (tccgtaggtgaacctgcgg), ITS4 (tcctccgcttattgatatgc), NS1 (gtagtcatatgctgtct), NS4 (cttcctgcaattccttaag).

ПЦР проводили по следующей программе: 1 этап – 1 цикл (преденатурация: t = 1 мин, T = 98°C); 2 этап – 35 циклов (денатурация: t = 10 с, T = 98°C; отжиг: t = 20 с, T = 47°C; элонгация: t = 1 мин 10 с, T = 72°C); 3 этап – 1 цикл (элонгация: t = 4 мин, T = 72°C); 4 этап – 1 цикл (охлаждение реакционной смеси: t = 4 мин, T = 4°C). Секвенирование осуществляли по Сенгеру, сравнение полученных нуклеотидных последовательностей с доступными последовательностями из базы данных ГенБанк проводили с помощью программы BLASTN 2.15 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Результаты исследования выявили сложность идентификации грибов *Trichoderma/Hypocrea*. Например, изолят с морфолого-культуральными признаками *T.koningii* участок NS1-NS4 идентифицировал как *Trichoderma sp.*, в то время как участки ITS1-ITS4 подтвердили принадлежность гриба виду *Trichoderma koningii* с идентичностью 98.96%. ПЦР-диагностика стромы *Hypocrea* с использование локуса ITS не дала возможности установить ее видовую принадлежность, но при анализе мицелия, полученного при культивировании фрагментов телеоморфы, с использованием секвенированных участков NS1-NS4 малой субъединицы рибосомы было установлено 100% соответствие виду *Hypocrea muroiana*.

Объектами сравнительного исследования свойств анаморфной и телеоморфной стадий *Trichoderma/Hypocrea* были выбраны 4 гриба с разными фенотипическими признаками: *H.koningii* (компактная строма с ровными краями и ярким коричневым гименофором), *H.muroiana* (плотная распростертая белая строма с неровными краями), *T.koningii* (зеленый конидиальный налет без четких границ), *T.atroviride* (мелкие зеленые подушечки). Колонии *T.atroviride* были локализованы только на древесине, остальные – на глинобитных полах рядом с деревянными подставками под экспонаты (рисунок 1).

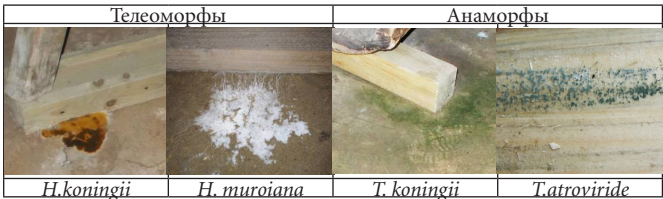


Рис. 1. Локализация очагов плесневого поражения глинобитных полов и древесины музейного амбара с этнографической экспозицией

При изучении влияния внешних факторов на ростовую активность грибов критерием оценки была выбрана биомасса газонной культуры после 3 недель культивирования на агаризованной среде Чапека-Докса с 2% Na-карбоксиметилцеллюлозы в качестве источника углерода. Мицелий отделяли от среды горячим фильтрованием после 2-х минутного кипячения в большом количестве воды. Выход биомассы рассчитывали как отношение абсолютно сухих веществ к площади газона в чашке Петри.

Исследование влияния температуры на рост выделенных грибов показало их высокую психротолерантность, особенно у телеоморф. Выход биомассы *H.koningii* при температуре 5°C был в 2 раза выше, чем при 28°C (таблица 1).

Табл. 1. Влияние температуры на выход биомассы газонной культуры грибов *Trichoderma/Hypocrea*

Температура, °C	Биомасса, мг/см²			
	<i>H.koningii</i> A-3	<i>H.muroiana</i> A-7	<i>T.koningii</i> A-12	<i>T.atroviride</i> A-6
5	2,6	2,4	1,5	1,0
15	2,2	2,5	1,6	1,3
28	1,3	1,6	1,4	1,5

С целью обеспечения сохранности памятников деревянного зодчества БГМНАиБ и собранных в них экспонатов в музее систематически использовались различные способы химической обработки. Для антисептирования глинобитных полов многократно применялись составы на основе медного купороса и бензалкониум хлорида в высоких концентрациях, однако биозащитный эффект биоцидов имел лишь временный характер [7].

Проверка устойчивости выделенных грибов к токсическому действию медного купороса выявила повышенную резистентность телеоморф, особенно *H.koningii*, по сравнению с изолятами анаморф (таблица 2).

Табл. 2. Влияние медного купороса (CuSO₄) на выход биомассы газонной культуры грибов *Trichoderma/Hypocrea* при температуре 15°C

Концентрация CuSO ₄ , %	Биомасса, мг/см²			
	<i>H.koningii</i> A-3	<i>H.muroiana</i> A-7	<i>T.koningii</i> A-12	<i>T.atroviride</i> A-6
0	2,4	2,3	1,5	1,1
0,001	2,8	2,6	1,7	1,2
0,005	2,3	2,0	1,1	0,4
0,01	1,8	1,4	0,8	1,0
0,05	1,2	1,0	0,4	0
0,10	0,8	0,5	0	0

Наиболее высокую резистентность к бензалкониум хлориду проявил *H.muroiana*, у *H.koningii* она была несколько слабее, у анаморфных грибов – значительно ниже (таблица 3).

Табл. 3. Влияние бензалкониум хлорида (БХ) на выход биомассы газонной культуры грибов *Trichoderma/Hypocrea* при температуре 15°C

Концентрация БХ, %	Биомасса, мг/см²			
	<i>H.koningii</i> A-3	<i>H.muroiana</i> A-7	<i>T.koningii</i> A-12	<i>T.atroviride</i> A-6
0	2,6	2,5	1,6	1,2
0,001	2,7	2,8	1,8	1,4
0,005	1,4	1,7	1,7	1,0
0,01	1,1	1,4	0,6	0,5
0,05	0,9	1,2	0	0
0,10	0,5	1,0	0	0

В условиях низких температур устойчивость изолятов *Hypocrea* к токсическому действию биоцидов была еще выше. При 5°C они быстро колонизировали образцы древесины, обработанные фунгицидным составом Saratoh, содержащим 1,6% бензалконииум хлорида, фунгистатический эффект оказала только его 10 % концентрация (рисунок 2).

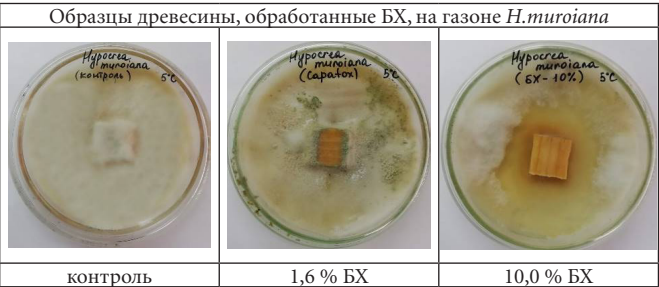


Рис. 2. Рост *H.muroiana* при температуре 5°C в присутствии образцов древесины, обработанных бензалконииум хлоридом (БХ) в различных концентрациях.

Результаты исследования дают основание утверждать, что попытка решить проблему биоповреждения музейных объектов с помощью

биоцидной обработки спровоцировала переход плесневых грибов рода *Trichoderma* от конидиальной стадии (анаморфа) в сумчатую стадию (телеоморфа) с высокой резистентностью к неблагоприятным факторам внешней среды.

Список литературы

1. Алимova Ф.К. Промышленное применение грибов рода *Trichoderma*. – Казань: Изд-во КГУ, 2006. – 209 с.
2. Savoie J.M., Delpech P., Billette C., Mata G. . Science and cultivation of edible fungi. Rotterdam, The Netherlands: A.A. Balkema, 2000. – P. 667- 674.
3. Miguel D., Gómez P., González R. [et al.]. Nonfatal pulmonary *Trichoderma viride* infection in an adult patient with acute myeloid leukemia: report of one case and review of the literature . Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. – 2005. – Vol. 53. – P. 33–37.
4. Алимova Ф.К. современная система *trichoderma/hypocrea* . ученые записки Казанского государственного университета.– 2005.–Т.147, кн. 2.– С.28-55.
5. Александрова А.В., Великанов л.л., Сидова и.и. Ключ для определения видов рода *Trichoderma* . микология и фитопатология. – 2006.– Т.40, вып 6.– С.457-468.
6. Druzhinina I.S, Kopchinskiy A.G, Komoń M, Bissett J, Szakacs G, Kubicek C.P. An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea* . Fungal Genetics and Biology.– 2005.– V. 42, n. 10.– P. 813-828.
7. Гайдукова Г.В. Из опыта работы по сохранению музейных коллекций. Заславль, 2011. – С. 11-14.

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ ГРИБОВ ФИЛЛОПЛАНЫ

Царелунга А.А.
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

В настоящее время известно, что, как подземные, так и надземные органы растений активно заселяются различными микроорганизмами, включая дрожжевые и мицелиальные грибы [1]. Филлоплана представляет собой строго поверхность листьев растений, и является местообитанием, характеризующимся довольно жесткими условиями жизни, такими как, низкая влажность, механическое воздействие ветра и дождя, бедность питательных веществ и высокая солнечная инсоляция, которые, вкпе со специфичностью строения самой поверхности листа, влияют на возможность заселения данного местообитания. Большая доля работ, посвященных изучению филлопланы, как местообитание грибов, рассматривают лист, в первую очередь, как окно для проникновения инфекций и, соответственно, в таких работах основной фокус внимания уделяется фитопатогенным видам. Хотя данных по эпифитным грибам, развивающимся на поверхности листа сапротрофно, относительно немного, уже сейчас ясно, что они могут быть вовлечены во множество важных экологических процессов, среди которых участие в круговороте биогенных элементов, влияние на возможность заселения листа патогенными видами и разложение листовой пластинки [2, 3]. Однако, биологический цикл и динамика заселенности филлопланы, особенно мицелиальными грибами, в течение сезона остаются неизученными.

Целью данной работы было изучение динамики развития грибов на поверхности листа разных растений в течение сезона. В качестве объектов исследования были выбраны клевер луговой (*Trifolium pratense* L.) и липа сердцевидная (*Tilia cordata* L.). Оценка численности велась прямыми методами, а именно при помощи сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). По 8 листьев каждого растения отбирали в последнюю неделю мая, июня, июля, сентября и октября 2023 года (листья липы не были отобраны в июле), а затем фиксировали и

готовили для СЭМ по стандартным методикам; работа проводилась в общефакультетской лаборатории электронной микроскопии МГУ.

Для каждого фрагмента листа, случайным образом было выбрано по 6 полей зрения, при увеличении, достаточном для распознавания грибных структур. Затем эти поля зрения фотографировались и, таким образом, для каждой временной точки и каждого вида растения, было запечатлено по 48 полей зрения, по которым в дальнейшем велся учет численности грибных структур. Была проведена качественная оценка численности грибов в филлоплане клевера и липы, каждому полю зрения присуждалась одна из следующих оценок: (0) отсутствие явных грибных структур, (+) единичное или незначительное присутствие грибных структур, (1) обильное наличие грибных структур. На основе полученных оценок, было подсчитано относительное число полей зрения, на которых было отмечено присутствие грибных структур в целом (суммарное число оценок «+» и «1»), а также относительное число полей зрения с обильным присутствием микромицетов (только оценки «1»).

Уже при таком сравнительно грубом анализе видно увеличение встречаемости грибов в филлоплане как клевера, так и липы, к концу сезона (рис. 1, 2).

Май характеризуется полным отсутствием мицелия на поверхности листьев, попадают лишь отдельные споры или клетки, похожие на дрожжевые. Затем, в июне можно уже наблюдать прорастающие споры или разросшийся на поверхности листа мицелий. В случае с клевером, это верно и для июля с сентябрем, после которого, в октябре, виден значительный рост численности грибов. Доля полей зрения, на которых отмечается наличие грибных структур возрастает до 100%, а в половине случаев можно наблюдать активно развивающийся мицелий. В случае с липой, подобная картина

наблюдается уже в сентябре. Эти результаты согласуются с другими работами, в которых изучалась сезонная динамика численности дрожжей [4] или филлопланы растений других видов [5].

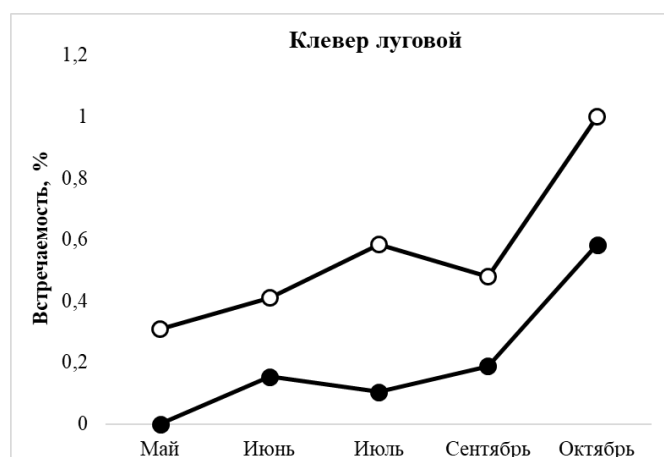


Рис. 1. Изменение численности грибов по ходу сезона в филлоплане клевера лугового. Белый кружок обозначает долю полей зрения, на которых было отмечено присутствие грибных структур; Черный кружок обозначает долю полей зрения с обилием грибных структур

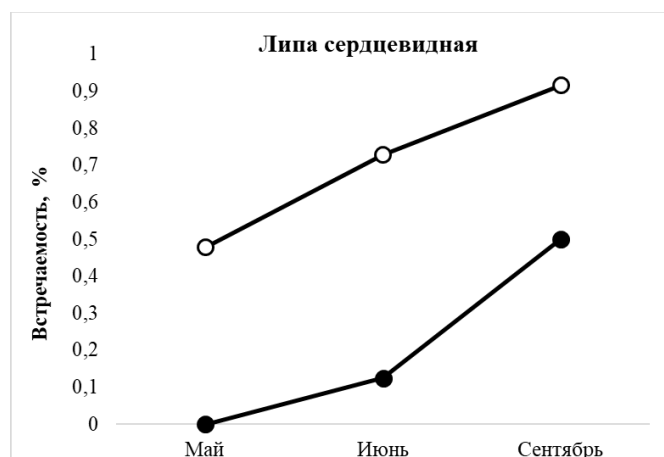


Рис. 2. Оценочный график изменения численности грибов по ходу сезона в филлоплане липы сердцевидной. Белый кружок обозначает долю полей зрения, на которых было отмечено присутствие грибных структур; Черный кружок обозначает долю полей зрения с обилием грибных структур

Таким образом, ясно, что пик развития эпифитных грибов приходится на осень, однако не ясно, какая именно судьба ждет обитателей филлопланы далее, после опадания листьев и прихода зимы. Весной, развитый мицелий, способный сформировать споронии на поверхности листьев отсутствует, однако обнаруживаются споры, которые прорастают к началу лета. Это может говорить о том, что грибы, способные развиваться на поверхности листьев, в начале сезона формируют споронии не на живых молодых листьях, а, например, на листовом опаде, развиваясь там после зимовки, либо на листьях с многолетним жизненным циклом, что требует дальнейшего изучения.

Список литературы

1. Царелунга А.А., Благовещенская Е.Ю., 2023. Филлоплана как местообитание грибов // Журнал общей биологии. Т. 84, № 4. С. 1–16.
2. Kirschner R., 2015. Fungi on the leaf – a contribution towards a review of phyllosphere microbiology from the mycological perspective // Biodiversity and ecology of fungi, lichens, and mosses – Kerner von Marilaun Workshop. P. 433–448.
3. Sivakumar N., Sathishkumar R., Selvakumar G., Shyamkumar R., Arjunekumar K., 2020 Phyllospheric microbiomes: diversity, ecological significance, and biotechnological applications // Plant Microbiomes for Sustainable Agriculture. Springer, 2020. P. 113–172. DOI: 10.1007/978-3-030-38453-1_5
4. Glushakova A.M., Chernov I.Y., 2007. Seasonal dynamic of the numbers of epiphytic yeasts // Microbiology. V. 76. № 5. P. 590–595. DOI: 10.1134/S0026261707050128
5. Lee O.H.K., Hyde K.D., 2002. Phylloplane fungi in Hong Kong mangroves: evaluation of study methods // Mycologia. V. 94. № 4. P. 596–606.

БИОДЕГРАДАЦИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ АСКОМИЦЕТАМИ *MICRODOCHIUM NIVALE* (XYLARIALES)

Ветчинкина Е.П.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ СЦ РАН, Саратов

Интерес к лигнинолитическим грибам обусловлен не только их способностью к разложению и минерализации лигнина, но и способностью к деградации широкого спектра устойчивых ароматических соединений, с химической структурой, подобной структурам веществ, образующихся в процессе биосинтеза или деградации лигнина. Например, синтетических красителей – опасных поллютантов, попадающих в окружающую среду из стоков лакокрасочной и текстильной промышленности. Обнаружено, что лигнинолитические грибы обесцвечивают, разрушая хромофорную часть молекулы, и минерализуют целый ряд природных и синтетических красителей, относящихся к различным химическим группам, снижая токсичность красителей в процессе

деградации [1]. Хорошо изучена способность к биодegradации различных поллютантов у грибов «белой гнили» ксилотрофных *Basidiomycota*, обладающих мощной ферментной системой с широкой субстратной специфичностью [2, 3]. Актуальной проблемой является поиск микромицетных грибов из отдела *Ascomycota*, вызывающих «мягкую гниль» древесины с высоким уровнем лигнинолитической активности для расширения диапазона организмов с потенциальным промышленным применением.

Цель исследования – определение лигнинолитического потенциала ряда штаммов *Microdochium nivale* (*Ascomycota*) и оценка способности к биодegradации синтетических красителей.

Материалы и методы исследования. Природные изоляты *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels and I.C. Hallett (*Ascomycota*) выращивали на синтетической среде при глубинном культивировании. Среду засеивали 10 суточным инокулятом штаммов микромицетов (один диск $d=5$ мм на 10 мл среды) и культивировали 4 суток при 26°C; затем в колбы вносили красители до конечной концентрации 0,03 г/л. В работе использовали красители Remazol Brilliant Blue R (RBBR, Reactive Blue 19), Malachite Green (N,N,N',N'-Tetramethyl-4,4'-diaminotriphenylcarbenium chloride) и Neutral Red (3-Amino-7-dimethylamino-2-methylphenazine hydrochloride) («Sigma-Aldrich», Sweden). Для определения способности к биодegradации исследуемых красителей из колб отбирали аликвоты (2 мл) через определенные промежутки времени (1, 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24 и 28 суток). Процесс обесцвечивания синтетических красителей контролировали по изменению (убыли) спектров поглощения при следующих длинах волн: нейтральный красный – 525 нм, ремазол бриллиантовый синий – 595 нм и малахитовый зеленый – 600 нм и рассчитывали по формуле [4]. Спектрофотометрические измерения проводили на планшетном фотометре BioTek («BioTek Instruments, Inc», USA) и Spark-10M («Tecan», Switzerland) в 96-луночных полистироловых планшетах для иммуноферментного анализа («МиниМед», Россия). Активность ферментов лигнинолитического комплекса определяли по скорости окисления соответствующих субстратов: лакказы по АБТС при длине волны 436 нм [5], тирозиназы по L-ДОФА при 475 нм [6], Мп-пероксидазы по 2,6-диметоксифенолу при 468 нм [7] и лигнин пероксидазы по скорости окисления вератрилового спирта («Sigma-Aldrich», Sweden) до вератральдегида при 310 нм [8]. Эксперименты были проведены не менее чем в 5 повторностях в 5 независимых экспериментах. Статистическую обработку результатов проводили общепринятым методом при помощи ПК с использованием статистического пакета анализа данных программы Excel Microsoft Office XP.

Результаты и обсуждение. Химические свойства различных ксенобиотиков и их доступность для биодegradации микроорганизмами зависят от размера молекулы, количества и расположения ароматических колец. На основании структур используемых красителей, они могут быть разделены на три группы: антрахиноновые красители (ремазол бриллиантовый голубой), антрацено-подобные красители, содержащие конденсированные кольца, но не структуру антрахинона (нейтральный красный) и диамино(трифенилметановые) красители (малахитовый зеленый). Было установлено, что все изучаемые в данном эксперименте штаммы аскомицета *M. nivale* метаболизируют антрахиноновые, антрацено-подобные и диамино-трифенилметановые красители при культивировании в погруженной культуре (Рис. 1). Степень биодegradации зависела от типа красителя и штаммовой принадлежности грибной культуры. Обесцвечивание красителя антрахинонового ряда Remazol Brilliant Blue R проходило постепенно с 1 по 28 сутки у 1, 3, 4, 5 и 6 штаммов, а для 2 штамма отмечено резкое увеличение биодegradации начиная с 4-х суток от начала эксперимента. Изменение (убыль) спектров поглощения от 1-х до 28-х суток составило от 0,07 до 0,11 единиц. Процент деколоризации относительно контроля у разных штаммов составил 10 – 15%, а для 2 штамма 26% (с 4 по 12 сутки на 12% и с 16 по 28 сутки еще на 13%) (Рис. 1А). Трансформация антрацено-подобно-

го красителя Neutral Red проходила несколько иначе, в первые четверо суток от внесения в среду культивирования красителя, убыль спектров поглощения изменилась на 0,23 – 0,3 единицы. В процентном соотношении относительно контроля это составило от 28% до 40%, и в последующие (с 4-х по 28-е) сутки мало изменялось, в пределах 5%, а для 5 штамма с 4-е по 20-е сутки на 10% (Рис. 1Б). Наиболее интенсивное обесцвечивание штаммами *M. nivale* наблюдалось относительно красителя диамино-трифенилметанового типа Malachite Green. Также как и в предыдущем случае, пик биодegradации красителя приходился на первые четверо суток, убыль спектров поглощения изменялась на 0,6 – 1,0 единицу. В процентах относительно контроля обесцвечивание малахитового зеленого на восьмые сутки от начала эксперимента составило 30 – 45%, а для 1 штамма – 65%, последующая деколоризация с 8-х по 28-е сутки сохранялась в пределах 3% (Рис. 1В).

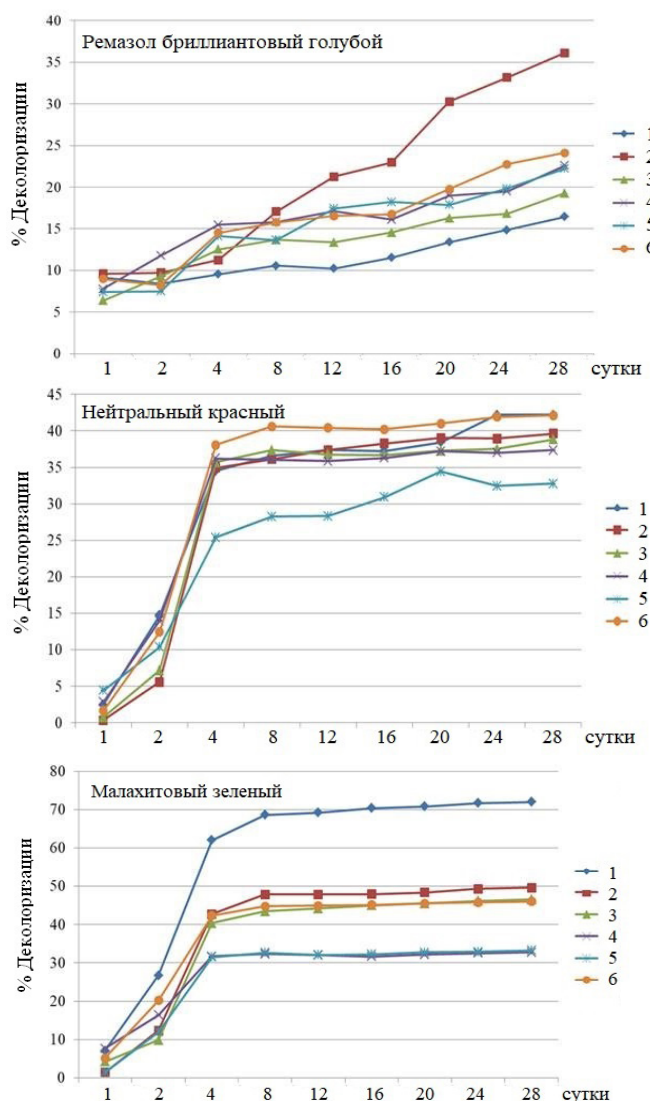


Рис. 1. Деколоризация антрахиноновых (ремазол бриллиантовый голубой) (А), антрацено-подобных (нейтральный красный) (Б) и диамино-трифенилметановых (малахитовый зеленый) (В) красителей штаммами аскомицета *M. nivale* при культивировании в погруженной культуре.

Таким образом, наибольшая способность к биодegradации штаммами *M. nivale* наблюдалась в отношении красителя диамино-трифенилметанового типа, особенно это касается 1 штамма, который обесцвечивал малахитовый зеленый на 65%. Наименьшей трансформации грибными культурами подвергался краситель антрахинонового ряда, максимум на 26% (2 штамм).

Антрахиноновые красители считают устойчивыми к биodeградации из-за наличия полициклической ароматической структуры. Нейтральный красный обесцвечивался под действием ферментов исследуемых аскомицетов на 28% – 40%. Трансформация Remazol Brilliant Blue R при культивировании в погруженной культуре проходила постепенно и постоянно с 1-х по 28-е сутки эксперимента, обесцвечивание Malachite Green и Neutral Red было намного интенсивнее в первые четверо суток от момента внесения красителей в среду культивирования.

Непосредственное участие в деградации, как лигноцеллюлозных субстратов, так и различных ксенобиотиков, принимают внеклеточные оксидоредуктазы, включая лигнинпероксидазу, Мп-пероксидазу и полифенолоксидазы (лакказы и тирозиназу). Поэтому мы попытались проследить корреляционную зависимость между динамикой биodeградации красителей штаммами аскомицета *M. nivale* и активностью ферментов лигнинолитического комплекса данных грибных культур в заданный временной интервал. Лигнин пероксидаза была максимально активна в первые десять дней после начала эксперимента, у всех штаммов пик активности приходился на 1 сутки после внесения красителей (то есть культуры были 5-ти суточные), далее на 4 сутки активность лигнин пероксидазы немного снижалась и на 8 сутки была в 1,5 – 2 раза меньше по сравнению с 1 сутками культивирования с красителями. Далее активность данных ферментов продолжала уменьшаться, оставаясь, тем не менее, на достаточно высоком уровне. Таким образом, обнаружена прямая корреляция между динамикой активности лигнин пероксидазы и интенсивностью обесцвечивания Malachite Green и Neutral Red, активная убыль красителя наблюдалась в первые восемь суток от момента их внесения в среду культивирования. Можно предположить, что лигнин пероксидазы аскомицета принимают участие в начальных этапах трансформации красителей. Как было отмечено, активность данных ферментов оставалась на достаточно высоком уровне в течение всего эксперимента и могла быть связана с постепенной трансформацией Remazol Brilliant Blue R, наиболее устойчивого к биodeградации красителя. Полифенолоксидаза (тирозидаза), как и лигнин пероксидаза, была активна в первой половине эксперимента и деградирующая активность штаммов здесь также коррелирует с продукцией активных тирозиназ. Активность Мп-пероксидазы и лакказы у многих штаммов была максимальна на 8 – 12 сутки культивирования, данные ферменты могут катализировать ряд этапов деградации красителей. Было также показано, что штаммы 1, 2 и 6 лучше других обесцвечивали малахитовый зеленый и нейтральный красный, при этом активность внеклеточных ферментов, включая лакказу и Мп-пероксидазу, у них была намного выше, чем у других штаммов. Активность лакказы у штаммов 3, 4 и 5 в данных условиях эксперимента была на очень низком уровне, по сравнению с пероксидазами, высокий титр которых позволяет предположить, что именно внеклеточные лигнин пероксидазы и Мп-пероксидазы играют ключевую роль в деградации красителей разного типа.

Таким образом, установлена способность природных изолятов микромицета *M. nivale* (Ascomycota), вызывающего «мягкую гниль» древесины, к биodeградации антрахинонового (Remazol Brilliant Blue R), антрацено-подобного (Neutral Red) и диамино-трифенилметанового (Malachite Green) красителей при культивировании в погруженной культуре. Степень биodeградации зависела от типа красителя и штаммовой принадлежности грибной культуры, наибольшая способность к биodeградации наблюдалась в отношении красителя диамино-трифенилметанового (Malachite Green) типа, особенно это касается 1 штамма, который обесцвечивал малахитовый зеленый на 65%. Корреляционную зависимость между динамикой биodeградации красителей штаммами аскомицета *M. nivale* и активностью ферментов лигнинолитического комплекса указывает на ключевую роль в деградации красителей внеклеточных лигнин- и Мп-пероксидаз. Учитывая повсеместное распространение грибов из отдела Ascomycota, и их потенциал в разложении широкого спектра ароматических соединений, микроскопические грибы могут стать активными объектами в промышленной биоконверсии лигноцеллюлозы, лакокрасочной и текстильной промышленности, устойчивых продуктов фармацевтической индустрии, а также могут применяться для биоремедиации окружающей среды.

Список литературы

1. Sosa-Martínez J.D., Balagurusamy N., Montañez J., Peralta R.A., de Fátima Peralta-Muniz-Moreira R., Bracht A. et al. Synthetic dyes biodegradation by fungal ligninolytic enzymes: Process optimization, metabolites evaluation and toxicity assessment // Journal of Hazardous Materials. 2020. V. 123254. P. 1–12.
2. Brazkova M., Koleva R., Angelova G., Yemendzhiev H. Ligninolytic enzymes in Basidiomycetes and their application in xenobiotics degradation // BIO Web of Conferences. 2022. V. 45. 02009. P. 1–11.
3. Arroyo G., Ruiz-Aguilar G., Lopez-Martinez L., Gonzalez-Sanchez G., Cuevas-Rodriguez G., Rodriguez-Vazquez R. Treatment of a textile effluent from dyeing with cochineal extracts using *Trametes versicolor* fungus // The Scientific World Journal. 2011. V. 11. P. 1005–1016.
4. Lopez M.J., Guisado G., Vargas-Garcia M.C., Sua'rez-Estrella F., Moreno J. Decolorization of industrial dyes by ligninolytic microorganisms isolated from composting environment // Enzyme Microb. Technol. 2006. V. 40. P. 42–45.
5. Slomczynski D., Nakas J.P., Tanenbaum S.W. Production and characterization of laccase from *Botrytis cinerea* 61-34 // Appl. Environ. Microbiol. 1995. V. 61. P. 907–912.
6. Pomerantz S.H., Murthy V.V. Purification and properties of tyrosinases from *Vibrio tyrosinaticus* // Arch. Biochem. Biophys. 1974. V. 160. P. 73–82.
7. Paszczynski R., Crawford V.B. Huynh Manganese peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*: purification // Methods Enzymol. 1988. V. 161. P. 264–270.
8. Orth A.B., Royse D.J., Tien M. Ubiquity of lignin-degrading peroxidases among various wood-degrading fungi // Appl. Environ. Microbiol. 1993. V. 59. P. 4017–4023.

МИКОБИОТА ПЛЕЙСТОФИТА *HYDROCHARIS MORSUS-RANAE* L.: ГРИБЫ ФИЛЛОПЛАНЫ, ЭНДОФИТЫ, ДЕСТРУКТОРЫ

Воронин Л.В.

Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского,

Одним из важных направлений микологических исследований в пресноводных гидроэкосистемах является изучение разнообразия, распространения, экологии грибов и грибоподобных организмов, связанных с гидрофитами. К настоящему времени получены сведения о микобиоте гелофитов, преимущественно их деструкторах, а сведения о плейстофитах минимальны (Wurzbacher et al., 2010; Воронин, 2010).

Наши исследования микобиоты водокраса лягушачьего проводились в водоеме озерного типа, образовавшемся около столетия назад на месте торфяного карьера в верховьях реки Урочь, притока Волги в г. Ярославле, Мостецком озере Ярославского района около границы Заволжского района г. Ярославля и в Барском пруду пос. Борок Некоузского района Ярославской области в июле — начале сентября 2023 г.

В филлоплане водокраса в водоеме верховьев Урочи установлено (метод отпечатков на агаризованную среду Чапека) существование бедного по видовому составу, но стабильного комплекса грибов: *Phoma herbarum* (52% массовости), *Fusarium moniliforme* (48%) и обильное количество дрожжей. Комплексы филлопланы в Барском пруду более разнообразны: доминировали грибы рода *Penicillium* (60%), немалую долю составляли *Aureobasidium pullulans* var. *melanigenum* (19%) и *Mucor hiemalis* (12%), единично были представлены *Cladosporium herbarum*, *F. moniliforme*. В озере Мостецкое применяли отпечатки раздельно верхней (надводной) и нижней (водной) сторон листа. Доминировал в обоих случаях *Penicillium cyclopium* (83% и 74% соответственно), выявлены *M. hiemalis* (5 и 10%), *Aspergillus* sp. (3 и 10%) и светлые стерильные мицелии (5 и 6%). В филлоплане верхней поверхности единично отмечены еще *Trichoderma viride* и *Verticillium* sp.

В черешках этих же листьев установили наличие эндофитов. В водоеме на Урочи их разнообразие превышало видовой состав филлопланы: кроме *F. moniliforme*

обнаружены *M. hiemalis*, *T. viride*, *Stemphylium botriosum*, *C. herbarum*, *Periconia comibrensis*. В Барском пруду среди эндофитов выявлены обитатели филлопланы: *A. pullulans* var. *melanigenum*, *M. hiemalis*, *Penicillium* spp., а в оз. Мостецкое - не отмеченные в филлоплане *C. sphaerospermum* и *Periconia minutissima*.

На отмирающих листьях, поставленных в водную накопительную культуру, либо вообще не выявлены грибы, либо присутствовали слабо растущие гифы. Только на образцах в водоеме на Урочи отмечены пустые и незавершившие рост пикниды. Микроскопирование показало огромное количество бактерий, по-видимому являющихся деструкторами водокраса. В октябре 1998 г. мы выявляли состав грибов, участвующих в деструкции листьев водокраса, частично находящихся в воздушной среде, методом посева их суспензии на агаризованную среду. Обнаружено значительное видовое разнообразие грибов, в том числе и характерных для филлопланы: *A. pullulans* var. *melanigenum*, *C. herbarum*, *C. macrocarpum*, *C. sphaerospermum*, *Phoma herbarum*, *Ph. eupyrena*, *Ph. exigua*.

Таким образом, на листьях водокраса лягушачьего формируются комплексы терригенных видов грибов филлопланы, выявлено наличие эндофитов в черешках листьев. Видовой состав грибов различается не принципиально по водоемам. При нахождении субстрата в условиях доступа воздуха грибы выполняют функцию деструкторов, а при полном погружении в воду деструкцию осуществляют бактерии.

Список литературы

1. Wurzbacher F., Bärlocher F., Grossart H.-P. Fungi in lake ecosystems// Aquat Microb Ecol. 2010. Vol. 59. P. 125 - 149. doi: 10.3354/ame01385
2. Воронин Л.В. Микобиота малых озер тундровой и лесной зон. Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2010. - 156 с.

ГИДРОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ, ПРОДУЦИРУЕМЫЕ МИКРОМИЦЕТАМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ АНАТОМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Зачиняев Я.В.* , Зачиняева А.В.** , Гладин Д.П.**

* Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск,

** Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

Патогенность грибов зависит, в частности, от секреции гидролитических ферментов.

Они способствуют разрушению клеточных мембран и, таким образом, позволяют грибам инвазировать ткани хозяина. Выработка и секреция гидролитических ферментов, таких как протеазы, липазы и фосфолипазы, являются очень важными факторами вирулентности. Эти ферменты играют роль в распространении грибов в организме человека, усвоении железа и преодолении иммунной системы хозяина. Распространение спор грибов, колонизирующих анатомические препараты, представляет опасность для студентов медицинских вузов.

Целью настоящего исследования было определить ферментативную активность мицелиальных грибов, изолированных из анатомических препаратов.

Материалы и методы. 25 мицелиальных грибов, выделенных из анатомических препаратов, растворов для хранения влажных препаратов и ванн для консервирования трупов, были проанализированы на их способность продуцировать внеклеточные ферменты на твердых средах. Были протестированы следующие виды грибов: *Aspergillus niger*, *A. nidulans*, *A. flavus*, *A. restrictum*, *A. ustus*, *Penicillium lilacinum*, *Mucor ramosissimus*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Aureobasidium* spp., *Trichoderma polysporum*, *Gliocladium roseum*, *Fonsecaea pedrosoi*.

Активность протеазы оценивали по образованию прозрачных зон вокруг колоний грибов на среде с обезжиренным молоком [1]. Для определения липазной активности грибы культивировали на среде с Твин-80. Их ферментативную активность оценивали по образованию кристаллов кальциевой соли олеиновой кислоты. Гемолитическую активность оценивали по образованию зон гемолиза на кровяном агаре.

Результаты

Изучение факторов патогенности выделенных и анатомических препаратов показало, что более 80% штаммов грибов обладают гидролитической активностью (Таблица 1). Представители следующих видов: *Penicillium lilacinum*, *Mucor ramosissimus* и *Fonsecaea pedrosoi* гидролитическую активность не показали.

Табл. 1. Гидролазы, продуцируемые тестируемыми изолятами грибов

Виды грибов	Кол-во штаммов	Кол-во штаммов, проявляющих гидролитическую активность		
		протеаза	липаза	гемолиз
<i>Aspergillus ustus</i>	5	2	1	2
<i>A. nidulans</i>	1	1	0	1
<i>Aspergillus niger</i>	3	3	3	3
<i>A. restrictum</i>	2	0	0	1
<i>A. flavus</i>	3	3	1	3
<i>Glocladium roseum</i>	2	2	0	2
<i>Trichoderma polysporum</i>	4	3	4	2
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	1	1	1	0

Важным фактором патогенности таких видов грибов, как *Aspergillus ustus*, *A. niger*, *A. flavus* являются про-

теазы. Изучение механизмов патогенности этих грибов показало, что основная роль в возникновении аспергиллёза лёгких принадлежит протеолитическим ферментам – эластазам, коллагеназам [2]. Свойство образовывать внеклеточные фосфолипазы выявлено у многих оппортунистических грибов – возбудителей микозов [3].

Выраженная гемолитическая активность была обнаружена у 56 % изолятов грибов.

Доказано, что у ряда мицелиальных грибов гемолитическая активность – это результат продукции токсинов. Так, Vesper et al. выделили гемолитический агент стахилизин из *Stachybotrys chartarum* [4].

Таким образом, гидролитические ферменты, являющиеся факторами патогенности, были обнаружены в большинстве протестированных культур грибов. Необходимо эффективная профилактика контаминации анатомических музеев, кафедр мицелиальными грибами, поскольку это создает серьёзную опасность для здоровья персонала.

Список литературы

1. Paterson R.R.M., Bridge P.D. (1994) Biochemical techniques for filamentous fungi. Int. J. Mycol. Instit. 1:21.
2. Кузикова И.Л., Медведева Н.Г. Оппортунистические грибы – контаминанты среды обитания человека и их потенциальная патогенность. Экология человека. 2021, №3. С. 4-14.
3. Карпунина Т.И., Олина А.А., Машуров М.Г., Чемурзиева Н.В., Драбкова В.А. Фосфолипазы оппортунистических грибов: их возможная роль в патогенезе и диагностике микозов. Проблемы медицинской микологии. 2006, Т. 8, № 6. С. 41-46.
4. Vesper S.J., Dearborn D.G., Yike I., Sorenson W.G., Haugland R.A. (1999) Hemolysis, toxicity, and randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Stachybotrys chartarum* strains. J. Appl. Environ. Microbiol. 65: P. 3175–3181.

МИЦЕЛИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ-АССОЦИАНТЫ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ИЗ ГЛУБОКОВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ БЕРИНГОВА МОРЯ (РОССИЯ)

Зверева Л.В., Борзых О.Г.
Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток

Проведены уникальные исследования мицелиальных грибов-ассоциантов беспозвоночных животных из глубоководных экосистем Берингова моря в районе подводного вулкана Пийпа [1]. Глубоководные местообитания – одна из самых неизведанных экстремальных сред, обладающая огромным потенциалом и представляющая интерес для науки как в плане фундаментальных проблем биоразнообразия, экологии и эндемизма микроорганизмов, так и в поиске новых биологически активных метаболитов [2,3,4]. Глубоководные организмы испытывают высокое гидростатическое давление, низкую температуру, недостаток питательных веществ, нулевую освещенность.

Берингово море – одно из крупнейших морей Мирового океана, расположенное в северной части Тихого океана между континентами Евразия и Северная Америка. Берингово море характеризуется особой батиметрией, гидрографией, продуктивностью и трофическими взаимосвязями, в результате чего оно классифицируется (по международным критериям) как «крупная морская экосистема» [5]. Согласно обобщен-

ным данным глубоководных микологических исследований в Мировом океане Берингово море можно охарактеризовать как “terra incognita” [6].

Для сбора глубоководных животных и донных отложений использован подводный телеуправляемый аппарат Comanche 18 (Sub-Atlantic, Великобритания), оснащенный видеокамерами высокого разрешения, картриджем с трубчатыми пробоотборниками и манипуляторами.

Материалом для микологического обследования служили губки Demospongiae и *Farrea ossa*, собранные на глубинах 479 м и 1066 м, соответственно, голотурии *Pannychia moseleyi* и *Paelopatides solea*, собранные на глубинах 1957 м и донные осадки, собранные на глубинах 409 м, 1066 м и 3397 м.

Из животных и донных осадков грибы выделены классическими микологическими методами культивирования на питательных средах.

Для идентификации грибов использовали таксономические признаки (морфологию репродуктивных структур, культуральные характеристики колоний) и

методы молекулярно-генетического анализа: ITS-5.8S и partial β -tubulin (*BenA*) gene sequencing [1].

Выделено 68 штаммов грибов, принадлежащих к 11 кульгурабельным видам Ascomycota: *Aspergillus jensenii*, *A. niger*, *A. pseudoglaucus*, *A. ruber*, *A. tubingensis*, *Penicillium antarcticum*, *P. chrysogenum*, *P. crustosum*, *P. rubens*, *Penicillium* sp. TIBETAN2 (Eurotiomycetes) и *Cladosporium halotolerans* (Dothideomycetes). Как правило, представители Ascomycota составляют 85 - 93% от общего числа видов, обнаруженных в глубоководных местообитаниях [7,8,9]. Все мицелиальные грибы, изолированные из животных и донных осадков из глубоководных экосистем Берингова моря, являются факультативно морскими видами. В губках Demospongiae обнаружены 4 вида грибов (*A. tubingensis*, *P. crustosum*, *P. rubens*, *Cladosporium halotolerans*), в губках *Farrea occa* - 2 вида (*A. pseudoglaucus*, *A. tubingensis*), в голотурии *Pannychia moseleyi* - 3 вида (*Aspergillus jensenii*, *Penicillium antarcticum*, *P. chrysogenum*), в голотурии *Paelopatides solea* - 1 вид (*Penicillium antarcticum*). Распределение мицелиальных грибов в обследованных экосистемах показало, что *Aspergillus niger*, *A. ruber*, *Penicillium* sp. TIBETAN2 были обнаружены в донных осадках, *A. jensenii* - в донных осадках и голотуриях, *A. pseudoglaucus* - в донных осадках и губках, *A. tubingensis*, *Penicillium crustosum* и *Cladosporium halotolerans* - в губках, *Penicillium antarcticum* и *P. chrysogenum* - в голотуриях. Ранее, штаммы *Penicillium antarcticum* изолировали из морских губок, штаммы *P. chrysogenum* - из донных осадков глубоководных каньонов северной Атлантики [7]. Средняя частота встречаемости изолятов грибов в подводных каньонах северной Атлантики составляет 3.1 изолят/образец донных осадков и 1.5 изолят/образец губки [7]. Виды родов *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* широко распространены как в глубоководных экосистемах Мирового океана, так и в наземных средах обитания, и активны в морской среде благодаря универсальной физиологической адаптации [2]. Эксперименты с глубоководными грибами в условиях, имитирующих параметры глубоководной среды (высокое гидростатическое давление и низкая температура), выявили как пьезотолерантные, так и пьезофильные микромицеты [10]. Показано, что высокое гидростатическое давление влияет на вегетативный рост и выработку вторичных метаболитов *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* и других мицелиальных грибов, выделенных из отложений Марианской впадины [11].

Мицелиальные грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* относятся к группе условно-патогенных и токсигенных микроорганизмов, способных вызывать

микозы и микотоксикозы гидробионтов. Из глубоководных грибов был выделен широкий спектр биоактивных метаболитов, которые обладают антибактериальными, противовирусными, противогрибковыми, противодиабетическими, противовоспалительными и противоопухолевыми свойствами, имеющих важное фармацевтическое значение [4].

Список литературы

1. Borzykh O.G., Efimova K.V., Zvereva L.V., et al. 2022. Mycobiota of deep-sea benthic communities on the Piip submarine volcano, Bering Sea, Russia // Deep-Sea Research Part II. Vol. 201. 105108.
2. Raghukumar S. 2017. Fungi in Coastal and Oceanic Marine Ecosystems: Marine Fungi. Springer International Publishing. 378 p.
3. Daletos G., Ebrahim W., Ancheeva E., et al. 2018. Natural Products from Deep-Sea-Derived Fungi— A New Source of Novel Bioactive Compounds? // Current Medicinal Chemistry, V. 25. № 2. P. 186-207.
4. Arifeen M. Z. U., XueY-R, Liu Ch-H. 2019. Deep-Sea Fungi: Diversity, Enzymes, and Bioactive Metabolites. In: Tiquia-Arashi S. M., Grube M. (Eds.). Fungi in Extreme Environments: Ecological Role and Biotechnological Significance. Springer International Publishing. P. 331-347
5. Matishov, G.G., Balykin, P.A., Karpenko, V.I. 2009. Great marine ecosystems of Russia: western Bering Sea. Bulletin of the South Scientific Center of the RAS. 5 (2), 49–57. [In Russian].
6. Vargas-Gastélum, L., Riquelme, M., 2020. The Mycobiota of the Deep Sea: What Omics Can Offer. Life 10, 292. DOI: 10.3390/life10110292.
7. Marchese P., Garzol L., Young R., et al.. 2021. Fungi populate deep-sea coral gardens as well as marine sediments in the Irish Atlantic Ocean. Environmental Microbiology. DOI: 10.1111/1462-2920.15560.
8. Zhang, X., Li, Y., Yu, Z., Liang, X., Qi, S., 2021. Phylogenetic diversity and bioactivity of culturable deep-sea-derived fungi from Okinawa Trough. J. Ocean. Limnol. 39, 892–902. DOI: 10.1007/s00343-020-0003-z.
9. Feng L., Song Q., Jiang Q. et al. 2021. The Horizontal and Vertical Distribution of Deep-Sea Sediments Fungal Community in the South China Sea // Front. Mar. Sci. 8:592784. doi: 10.3389/fmars.2021.592784.
10. Damare, S., Raghukumar, C., and Raghukumar, S. 2006. Fungi in deep-sea sediments of the Central Indian Basin. Deep Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Papers 53, 14–27. doi: 10.1016/j.dsr.2005.09.005.
11. Peng, Q., Li, Y., Deng, L., Fang, J., Yu, X., 2021. High hydrostatic pressure shapes the development and production of secondary metabolites of Mariana Trench sediment fungi. Sci Rep 11, 11436. DOI: 10.1038/s41598-021-90920-1.

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Current Mycology in Russia

Том 10

Выпуск 3.

**Паразитизм
и симбиоз**

Глава 5.

Лишайники

doi: 10.14427/cmr.2024.x.05

Глава 6.

**Взаимоотношения грибов,
бактерий, животных и растений.
Микориза**

doi: 10.14427/cmr.2024.x.06

Volume 10

Issue 3.

**Fungal parasitism
and symbiosis**

Chapter 5.

Lichenology

doi: 10.14427/cmr.2024.x.05

Chapter 6.

**Fungal relations to bacteria,
animals and plants.
Mycorrhiza**

doi: 10.14427/cmr.2024.x.06

Содержание выпуска 3

Глава 5. Лишайники

ЭПИФИТНЫЕ ЛИШАЙНИКИ ГОРОДА КИНГИСЕППА (ЛЕНИНГРАДСКАЯ ОБЛАСТЬ) Истомина Н.Б., Редина В.В.....	186
СОДЕРЖАНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ЭПИФИТНЫХ ЛИШАЙНИКАХ ЕЛЬНИКА И СОСНЯКА ПОДЗОНЫ СРЕДНЕЙ ТАЙГИ Катаева М.Н., Беляева А.И.....	187
ЛИШАЙНИКИ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ «БАРСКАЯ УСАДЬБА С. АРТЕМЬЕВО» (ЯРОСЛАВСКАЯ ОБЛАСТЬ) Кондакова Г.В.....	188
ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ДАННЫХ ОБ ЭЛЕМЕНТНОМ СОСТАВЕ ЛИШАЙНИКОВ В БИОИНДИКАЦИИ Мейсурова А.Ф., Нотов А.А.....	190
РОЛЬ ЛИХЕНОБИОТЫ В КУЛЬТУРНО-ИСТОРИЧЕСКОМ ОБЛИКЕ ПАМЯТНИКОВ АРХИТЕКТУРЫ Пчелкин А.В.....	192
ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ЛИШАЙНИКОВ РОДА <i>CLADONIA</i> МЕТОДОМ СТАБИЛИЗАЦИИ Пчелкин А.В.....	194
МАКРОЛИШАЙНИКИ МОСКОВСКОГО РЕГИОНА Толпышева Т.Ю., Пчелкин А.В.....	195
ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ СИМБИОНТОВ В ТАЛЛОМЕ ЛИШАЙНИКА <i>XANTHORIA PARIETINA</i> (L.) BELTR. Власова Т.А., Агеева И.В.....	197
ГЕОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИХЕНОБИОТЫ ХВОЙНЫХ ЛЕСОВ НА ПРИМЕРЕ ГЕОБОТАНИЧЕСКИХ ПОДЗОН БЕЛАРУСИ Яцына А.П.....	198

Глава 6. Взаимоотношения грибов, бактерий, животных и растений. Микориза

<i>AKANTHOMYCES</i> CF. <i>ACULEATUS</i> – ПРОДУЦЕНТ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ, АКТИВНЫХ В ОТНОШЕНИИ ФИБРИЛЯРНЫХ И ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ Басалаева Д. Л., Богомолова А. А., Коваль А. В., Осмоловский А. А.....	200
НЕОБЫЧНАЯ НАХОДКА НА КОЛЬСКОМ ПОЛУОСТРОВЕ: ГРИБ <i>CORDYCEPS MILITARIS</i> КАК ПАРАЗИТ ТЛЕЙ Борисов Б.А., Александрова А.В., Антонов Е.А.....	202
ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПОЛЕВОЙ ОЦЕНКИ ИНСЕКТИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ИЗОЛЯТОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЭНТОМОПАРАЗИТИЧЕСКИХ ГРИБОВ НА ЛИЧИНОК И ИМАГО АДВЕНТИВНОГО КЛОПА ДУБОВОЙ КРУЖЕВНИЦЫ (<i>CORYTHUCHA ARCUATA</i>) Михайлова Е.В., Борисов Б.А., Шошина Е.И., Журавлёва Е.Н., Карпун Н.Н.....	203
К ВОПРОСУ ИССЛЕДОВАНИЯ АРБУСКУЛЯРНЫХ МИКОРИЗ <i>CROCUS ALATAVICUS</i> REGEI & SEMEN. НИЗКОГОРЬЯ ЗАИЛИЙСКОГО АЛАТАУ Фалеев Д.Г.....	205
СОВМЕСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ <i>AUREOBASIDIUM PULLULANS</i> С МИКРОВОДОРОЛЯМИ ВИДОВ <i>NEOCHLORIS OLEOABUNDANS</i> И <i>CHLORELLA VULGARIS</i> Геворгян С. А., Хачатурян Н. С., Гогинян В. Б., Матевосян Р. Э., Ованисян Н. А.....	206
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГРИБКОВ В МЕНЯЮЩЕЙСЯ СРЕДЕ Джафарзаде С. А.....	207
АНАЛИЗ УСЛОВИЙ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ ЛЮЦЕРНЫ ХМЕЛЕВИДНОЙ: МОНО- И ДВОЙНАЯ ИНОКУЛЯ- ЦИЯ ПРОРОСТКОВ МИКОРИЗНЫМИ ГРИБАМИ И РИЗОСФЕРНЫМИ ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ Калинина Т.В., Железняков С.В., Якоби Л.М.....	208
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ С ПОВЕРХНОСТИ КОРНЕЙ КИТАЙСКОЙ КАПУСТЫ, С МИКРОМИЦЕТОМ <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> L. Леус Т.В., Иванова А.А., Коршунов Д.В., Морозова Ю.А., Смолянина С.О., ...	210
ПЕРВИЧНАЯ ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ И НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ СИМБИОНТОВ РОССИЙСКОГО ТРЮФЕЛЯ <i>TUBER AESTIVUM</i> Малыгина Е.В., Иמידоева Н.А., Бельшенко А.Ю., Дмитриева М.Е., Моргунова М.М., Кулинич С.В., Вавилина Т.Н., Аксёнов-Грибанов Д.В.....	211
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭНДОМИКОРИЗЫ НА АГРОХИМИЧЕСКИЕ И МИКОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОЧВЫ В РИЗОСФЕРЕ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ Митин Д.Н., Ларина Г.Е., Казакова А.А., Серая Л.Г.....	213
ЭНДОБАКТЕРИИ, ПАРАЗИТИРУЮЩИЕ В КЛЕТКАХ ГРИБОВ РОДА <i>CANDIDA</i> Мурадова С.А.....	214
ДЕГРАДАЦИЯ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ БАКТЕРИАЛЬНО-ГРИБНЫМИ КУЛЬТУРАМИ Позднякова Н.Н., Муратова А.Ю., Турковская О.В.....	216

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ КИШЕЧНЫХ ШТАММОВ <i>RHODOTORULA MUCILAGINOSA</i> НА СКОРОСТЬ РОСТА УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ	
Прокопьев В.В. , Эпп Е.В. , Юрова В.А.	217
РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ГРИБОВ РОДА <i>ASPERGILLUS</i> SP. В ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ПРОДУКТЫ ПЧЕЛОВОДСТВА В ПРЕДГОРНЫХ И ГОРНЫХ РАЙОНАХ АЗЕРБАЙДЖАНА	
Сеидова Г.М., Гаджиева С.В., Мурадова С.А.	219
ВЫДЕЛЕНИЕ ЭНДОФИТНЫХ ДРОЖЖЕЙ ИЗ ГЕНЕРАТИВНЫХ И ЗАПАСАЮЩИХ ЧАСТЕЙ РАСТЕНИЙ	
Шодиева Д.Г., Абдульмянова Л.И., Гулямова Т.Г.	219
ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫЕ СВОЙСТВА ШТАММА <i>TOLYROCLADIUM INFLATUM</i> 19D-O	
Скачкова А.Д., Козлов А.В.	221
БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МАКРОМИЦЕТОВ С ПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ	
Цивилева О.М., Шатерников А.Н.	222
КОЛЛЕКЦИЯ ГРИБОВ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ: ПРОБЛЕМЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ И КУЛЬТИВИРОВАНИЯ	
Юрков А.П., Крюков А.А., Горбунова А.О.	224

Глава 5

Лишайники

10.14427/cmr.2024.x.05

ЭПИФИТНЫЕ ЛИШАЙНИКИ ГОРОДА КИНГИСЕППА (ЛЕНИНГРАДСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Истомина Н.Б., Редина В.В.
Псковский государственный университет

Лишайники являются общепризнанными биологическими индикаторами и широко используются в системе экологического мониторинга (Бязров, 2002). В настоящее время опубликовано достаточное количество работ, посвященных изучению лишайнобиот городов, отличающихся по площади, населению и степени загрязнения (Мучник, 2004, Малышева, 2005, Бязров, 2009, Анищенко, Сафранкова, 2013, Толпышева, 2023, и др.). Важной составляющей мониторинговых исследований в городах является динамика видового состава эпифитных лишайников, которая позволяет определить трансформацию урбанизированных экосистем и проанализировать степень загрязнения атмосферного воздуха. Инвентаризация лишайнобиоты является начальным этапом в подобных исследованиях.

Целью настоящего исследования – выявление видового состава эпифитных лишайников города Кингисеппа.

Кингисепп является административным центром Ленинградской области и находится в 137 км от Санкт-Петербурга на берегу реки Луга. На территории города расположены промышленные предприятия: известковый завод, предприятия «Фосфорит», «ЕвроХим – Северо-Запад» и др. Проводится мониторинг выбросов загрязняющих веществ в атмосферу.

Загрязнение воздуха в городе характеризуется низкими показателями, однако в летнее время отмечено повышенное содержание загрязняющих веществ в атмосфере (Состояние..., 2022).

Рекреационные зоны города представлены старинными парками и скверами, созданными во второй половине 19 века и лесопарковыми участками, расположенными на правом и левом берегах реки Луги. Эти зеленые зоны характеризуются наличием в них фрагментов естественных участков сосняков. Сохранившиеся лесные фитоценозы входят в состав средней и южной тайги северо-запада России.

Изучение эпифитных лишайников на территории города проводилось в полевой сезон 2023 года. Маршрутным методом были обследованы парк «Летний сад», а также скверы и фрагменты естественных участков сосняков, которые входят в границы города (сквер вдоль р. Луга на ул. Жукова, сквер на ул. Крикковское шоссе, сосняк на ул. Светлая). Лишайники собраны со стволов деревьев липы сердцелистной, ясени обыкновенного, березы бородавчатой, клена остролистного, клена ясенелистного, сосны обыкновенной.

В результате проведенных исследований обнаружено 42 вида лишайников, относящихся к 27 родам, 12 семействам, 7 порядкам, 2 подклассам и 1 классу, 1 отделу. В работе номенклатура видов лишайников приводится по данным Index Fungorum.

Преобладающими по числу родов и видов являются семейства *Parmeliaceae* (12 родов и 16 видов),

Physciaceae (4 рода, 8 видов). Одним родом и 4 видами представлено семейство *Cladoniaceae*. В семействах *Ramalinaceae* (1 род, 3 вида), *Teloschistaceae* (2 рода и вида), *Lecanoraceae* (2 вида). Семейства *Scoliciosporaceae*, *Stereocaulaceae*, *Phlyctidaceae*, *Sarrameanaceae*, *Candelariaceae*, *Ophioparmaceae* представлены одним родом и видом.

Выявлены фоновые эпифитные лишайники, которые широко распространены практически во всех обследованных зеленых зонах города и произрастают на различных древесных породах (липа, береза, клен, ясень, сосна). К числу таких лишайников относятся: *Phaeophyscia orbicularis* (Neck.) Moberg, *Physcia adscendens* H. Olivier, *P. aipolia* (Ehrh. ex Humb.) Fűrnr., *P. tenella* (Scop.) DC., *Physconia detersa* (Nyl.) Poelt, *P. enteroxantha* (Nyl.) Poelt, *P. distorta* (With.) J.R. Laundon, *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr., *Scoliciosporum chlorococcum* (Graewe ex Stenh.) Vězda, *Physciella nigricans* (Flörke) S.Y. Kondr., Lökös & Hur, *Melanohalea exasperatula* (Nyl.) O. Blanco et al., *Parmelia sulcata* Taylor., *Melanelixia subaurifera* (Nyl.) O. Blanco et al. На липе сердцелистной и сосне обыкновенной отмечены *Evernia prunastri* (L.) Ach. На лиственных породах встречаются виды из рода *Ramalina*: *Ramalina pollinaria* (Westr.) Ach. – на липе сердцелистной, *Ramalina fraxinea* (L.) Ach. – на клене остролистном. *Ramalina farinacea* (L.) Ach. – на липе сердцелистной, ясене обыкновенном, на сосне обыкновенной.

Особый интерес представляют фрагменты естественных участков сосновых лесов, на которых встречаются эпифитные лишайники типичные для лесных фитоценозов. На сосне обыкновенной обнаружено 35 видов. Только на данной породе произрастают: *Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw., *Bryoria implexa* (Hoffm.) Brodo & D. Hawksw., *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., *Hypogymnia tubulosa* (Schaer.) Hav., *Melanelixia subargentea* (Nyl.) O. Blanco et al., *Parmeliopsis ambigua* (Hoffm.) Nyl., *P. hyperopta* (Ach.) Vain Platismatia glauca (L.) W.L. Culb. & C.F. Culb., *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf, *Nephromopsis chlorophylla* (Willd.) Divakar, A. Crespo & Lumbsch, *Usnea hirta* (L.) F.H. Wigg., *Hypocenomyce scalaris* (Ach.) M. Choisy., *Vulpicida pinastri* (Scop.) J. E. Mattsson & M.J. Lai.

На коре сосны выявлены накипные лишайники: *Lecanora pulicaris* (Pers.) Ach., *Lecanora symmicta* (Ach.) Ach., *Lepraria incana* (L.) Ach., *Loxospora elatina* (Ach.) A. Massal., *Polyscaulion polycarpa* (Hoffm.) Frödén et al., *Phlyctis argena* (Ach.) Flot.

В комлевой части сосны обыкновенной обнаружены виды из рода *Cladonia*: *Cladonia cenotea* (Ach.) Schaer., *C.coniocraea* (Flörke) Spreng., *C. digitata* (L.) Baumg., *Cl. fimbriata* (L.) Fr., *C. macilenta* (L.) Baumg.

Эпифитные лишайники проанализированы по отношению их чувствительности к загрязнению. Ранжирование проведено по пяти-ранговой шкале, предложенной

Л.Г. Бязровым (2009) во время лихенологических исследований на территории Москвы. В первый класс попадают лишайники толерантные к высокому уровню загрязнения: *Phaeophyscia orbicularis*, *Physcia adscendens*, *Xanthoria parietina*, *Scoliciosporum chlorococcum*, *Lepraria incana*. Ко второму классу относятся виды, которые выдерживают довольно высокий уровень загрязнения: *Physciella nigricans*, *Physconia detersa*, *P. enteroxantha*, *P. distorta*, *Parmelia sulcata*. В третий класс входят виды, выдерживающие средний, ощутимый уровень загрязнения: *Hypocenomyce scalaris*, *Hypogymnia physodes*, *Physcia. aipolia*, *Cladonia coniocraea*, *Cl. fimbriata*. Четвертый класс составляют виды, выдерживающие умеренное загрязнение: *Cladonia digitata*, *C. cenotea*, *C. macilentata*, *Evernia prunastri*, *Melanohalea exasperatula*, *Parmeliopsis ambigua*, *P. hyperopta*, *Nephromopsis chlorophylla*, *Hypogymnia tubulosa*, *Vulpicida pinastri*, *Lecanora symmicta*, *Platismatia glauca*, *Pseudevernia furfuracea*. В пятый отнесены лишайники наиболее чувствительные к загрязнению: *Melanelia subargentifera*, *Bryoria fuscescens*, *B. implexa*, *Phlyctis argena*, *Loxospora elatina*, *Ramalina pollinaria*, *R. fraxinea*, *R. farinacea*, *Usnea hirta*.

Результаты проведенных исследований показали, что видовой состав эпифитных лишайников города Кингисеппа достаточно разнообразен и представлен видами, характерными как для урбанизированных, так и естественных сообществ. Наличие высокочувствительных

видов эпифитных лишайников может свидетельствовать о благоприятной экологической ситуации в городе Кингисеппе. Полученные данные станут основой для проведения долгосрочного мониторинга в городе. Инвентаризация лишайников будет продолжена.

Список литературы

1. Бязров Л. Г. Лишайники в экологическом мониторинге. М. 2002. 336 с.

2. Мучник С.Э. Лишайники города Воронежа . Бот. журн. 2004. Т. 89. №4. — С. 614-624.

3. Малышева Н.В. Лишайники городов Европейской России. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб., 2005. 38 с.

4. Бязров Л.Г. Эпифитные лишайники г. Москвы: современная динамика видового разнообразия. М., 2009. 146 с.

5. Анищенко Л.Н., Сафранкова Е.А. Лихенофлора малых городов и поселков городского типа Брянской области: биоразнообразие и использование в биоиндикации. Вестник Огу №6 (155)/июнь`2013. С. 28-32.

6. Толпышева Т.Ю. Виды лишайников семейства Physciaceae с листоватыми талломами на территории Московской Области. Бюл. Моск. о-ва испытателей природы. Отд. биол. 2023. Т. 128. Вып. 2. Ботаника. С. 58-68.

7. Бязров Л.Г. Эпифитные лишайники г. Москвы: современная динамика видового разнообразия. М., 2009. 146 с.

СОДЕРЖАНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ЭПИФИТНЫХ ЛИШАЙНИКАХ ЕЛЬНИКА И СОСНЯКА ПОДЗОНЫ СРЕДНЕЙ ТАЙГИ

Катаева М.Н., Беляева А.И.
Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

Климатические изменения и атмосферное загрязнение являются одними из основных проблем современности. В регионе северо-запада европейской части недостаточно изучен уровень загрязнения эпифитных лишайников и не выявлены фоновые концентрации тяжелых металлов для оценки влияния промышленных выбросов в сообществах средней тайги. При минимальных техногенных нагрузках необходимо изучить влияние эколого-ценотических факторов на виды лишайников сем. *Parmeliaceae*; определить элементный состав видов лишайников и охарактеризовать его особенности в зависимости от жизненной формы.

Цель работы – установить содержание тяжелых металлов в видах эпифитных лишайников сем. *Parmeliaceae* в разных экологических условиях. Содержание тяжелых металлов сопоставляли в видах *Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo et D. Hawksw., *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., *Usnea dasopoga* (Ach.) Nyl., *Platismatia glauca* (L.) W.L.Culb. et C.F.Culb., *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. Талломы лишайников собраны в сосняке кустарничково-зеленомошном на рябине *Sorbus aucuparia* L. и ели европейской *Picea abies* (L.) H. Karst. Район исследования – южная часть Ладожско-Онежского перешейка, Ленинградская обл.

Образцы лишайников собирали на высоте 1,3 м с 3–7 экземпляров ели и рябин, анализировали образцы с отдельных деревьев. Концентрации химических элементов Mn, Fe, Zn, Cu, Ni, Cd и Pb в образцах лишайников и субстратов определяли на ААС Квант-АФА, Россия. Образцы очищали от посторонних примесей, сушили в термостате. Воздушно-сухую навеску 2.0–2.5

г озоляли в муфеле (450°C), затем растворяли в 2N HCl при нагревании, образцы фильтровали через фильтр средней плотности «синяя лента», объем 15 мл.

Материал собран в 2018–2019гг, работа продолжена в 2020–2023 гг. Состав лишайников сравнивали в зависимости от жизненных форм лишайников и влияния крон.

В лишайниках определены низкие концентрации металлов (табл. 1).

Табл. 1. Концентрации микроэлементов в лишайниках разных жизненных форм, мг/кг

Вид и субстрат	Ni	Cu	Cd	Pb	Fe	Mn	Zn
Ельник, под кронами на сухих ветвях ели							
<i>Bryoria fuscescens</i>	0,59	1,83	0,104	1,68	94	286	30
<i>Hypogymnia physodes</i>	1,41	2,92	0,253	5,49	265	499	47
Сосняк, под кронами, стволы молодых рябин							
<i>Bryoria fuscescens</i>	0,42	1,55	0,102	1,21	51	374	25
<i>Hypogymnia physodes</i>	1,40	3,28	0,437	5,11	304	830	48

Вид кустистой жизненной формы *B. fuscescens* накапливает менее высокие концентрации микроэлементов, по сравнению с листоватым видом *H. physodes* (табл. 1). Различия концентраций между этими видами по разным элементам – 1,6–3,3 раза на сухих ветвях ели и 2,1–4,3 раза на рябине. Состав осадков под пологом леса

обогащается мобильными элементами, способными к вымыванию из крон, в первую очередь, марганцем и цинком. Эпифитные лишайники на рябине под пологом сосняка, даже при более молодом возрасте деревьев, содержат более высокие концентрации Mn. На стволах рябины в них более высокие концентрации марганца, в особенности *H. physodes* – 830 мг/кг. В талломах лишайников под пологом сосняка и ельника Mn выше Fe, Mn/Fe (1,14–7,33). На рябине Mn выше в обоих видах в 1,3–1,6 раз, по сравнению с сухими ветвями ели. На сухих ветвях ели в *B. fuscescens* есть тенденция к повышению концентраций микроэлементов, кроме Mn.

По сравнению с *H. physodes*, в других видах концентрации микроэлементов ниже. В *Platismatia glauca* содержание Fe выше Mn, Fe/Mn на ели 1,12, на рябине – 1,35 (табл. 2).

Табл. 2. Концентрации микроэлементов в лишайниках разных жизненных форм в ельнике и сосняке, мг/кг

Вид и субстрат	Ni	Cu	Cd	Pb	Fe	Mn	Zn
Ельник, под пологом, на сухих ветвях в кроне ели							
<i>Usnea dasopoga</i>	0,57	1,6	0,107	2,3	58	250	25
<i>Platismatia glauca</i>	0,50	1,5	0,070	1,8	147	109	26
<i>Pseudevernia furfuracea</i>	0,51	1,9	0,100	2,4	160	330	33
Сосняк, под пологом, на стволах живых рябин							
<i>Usnea dasopoga</i>	0,73	1,8	0,156	2,3	73,3	367	10
<i>Platismatia glauca</i>	0,62	2,2	0,202	2,3	274	245	23
<i>Pseudevernia furfuracea</i>	0,95	2,4	0,209	2,2	201	230	34

У остальных изученных видов концентрация Mn выше Fe (до 2–5 раз).
При фоновых концентрациях, в этих видах более высокое содержание Cd (1,46–2,89 раз), Ni и Pb на рябине, что, по-видимому, связано с поступлением осадков в подлесок сосняка.

Проведены оценки биомассы лишайников на стволах рябины в сосняке. По нашим данным, на рябине в составе преобладает *B. fuscescens* – 39%, *H. physodes* –

20,1%, *Ps. furfuracea* – 15%, *Pl. glauca* – 13,3%, и– 12,6%. Вклад *B. fuscescens* в биомассу существенный. Оценки массы эпифитов ранее сделаны в южной тайге [1]. Развитие кустистых видов лишайников свидетельствует о благоприятных экологических и микроклиматических условиях в подлеске сосняка на рябине и отсутствии сильного влияния загрязнения.

Довольно интенсивно накапливает микроэлементы *H. physodes*, за ним следует *P. furfuracea*. На двух форофитах на рябине в сосняке и на ели *Usnea dasopoga* и *Ps. furfuracea* отличаются больше, в 1,1–2,09 раз по разным элементам (табл. 2). Сильных отличий между кустистым лишайником *U. dasopoga* и *Ps. furfuracea* не обнаружено, как и с *P. glauca*, кроме Mn и Fe.

Состав лишайников отличается на сухих ветвях в нижней части кроны ели и на стволах рябин. В лесных сообществах на состав лишайников влияют поступление и распределение осадков. На рябине в лишайниках отмечается более высокое содержание Cd, Ni, Cu; на сухих ветвях ели в лишайнике *H. physodes* отмечается более высокий Pb. Концентрации тяжелых металлов в эпифитных лишайниках – близкие к фоновым значениям в лесах Финляндии [2]. Получены новые данные о фоновом содержании тяжелых металлов в лишайниках в северо-западном регионе для сообществ средней тайги.

Работа выполнена по плановой теме НИР № 121032500047-1 «Растительность европейской части России и северной Азии: разнообразие, динамика и принципы организации».

Список литературы

1. Бязров Л.Г. Фитомасса эпифитных лишайников некоторых типов лесных биогеоценозов подзоны широколиственно-еловых лесов. Растительные ресурсы, 1969. Т.5, вып.2, С.276–279.

2. Halonen P., Hyvarinen M., Kauppi M. Emission related and repeated monitoring of element concentrations in the epiphytic lichen *Hypogymnia physodes* in a coastal area, W.Finland. Ann. Bot. Fennici 1993, 30: P.251–261.

ЛИШАЙНИКИ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ «БАРСКАЯ УСАДЬБА С. АРТЕМЬЕВО»
(ЯРОСЛАВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Кондакова Г.В.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова

Среди памятников природы (ПП) Ярославской области (ЯО) особое место занимают старинные усадьбы с парками, которые являются не только объектами культурного наследия, но и представляют собой «природные кладовые», в которых могут сохраняться редкие и охраняемые виды. ПП «Барская усадьба с. Артемьево» расположен в деревне Артемьево в юго-западной части ЯО, в Мышкинском муниципальном районе (МР) на левом берегу реки Сутки, примерно 26 км к северо-западу от г. Мышкин. На протяжении трех веков (XVII–XIX) сельцо, местечко, деревня Артемьево с землями в округе принадлежало дворянам Селифонтовым. Пер-

вые документы, в которых упоминается Артемьево, относятся к первой половине XVII века, когда Михаил Федорович пожаловал К.Н. Селифонтову поместье “в Ярославском уезде, Верховском стане, сельце Артемьеве на реке Сутке, с деревнями и пустошами...” [1]. Сегодня усадьба в Артемьеве является частным владением, её приобрёл правнук последнего владельца – А.И. Бирюков, семья которого постепенно восстанавливает имение с частично сохранившимся после пожара в 2016 г. главным домом, парком с прудами, липовой аллеей [2]. С 1988 г. «Барская усадьба с. Артемьево» является ПП регионального значения ландшафтного профиля [3], с

2017 г. здесь утверждён режим особой охраны [4]. Общая площадь ПП составляет 11 га в границах старинного парка с прудами. Сохранившийся липняк окружен со стороны реки яблоневым садом, а с северной и восточной – густым мелколиственным лесом с елями, перемежающимся с небольшими луговинными полянами. По границе ПП произрастают ели, березы, вокруг прудов ивы.

Научные исследования по изучению биоразнообразия на территории ПП «Барская усадьба с. Артемьево» ранее не проводились, что является существенным пробелом при характеристике природных особенностей охраняемой территории. В 2014 г. нами были начаты лихенологические исследования ПП. Первые сборы проведены Н.Е. Герасимовой, в последующие годы мониторинг состояния лишенобиоты ПП и её изучение были продолжены автором. При обследовании территории ПП было установлено, что вековые липовые насаждения представлены единичными экземплярами, их состояние неудовлетворительное – на стволах видны глубокие морозобойные трещины, присутствуют плодовые тела трутовых грибов, отмечена сухостойность. Молодые липы сильно пострадали после ураганов 2013-2014 гг. и также подвержены заболеваниям. В подросте отмечены липы, ели, рябина. Сбор и обработку собранного лихенологического материала осуществляли с помощью общепринятых методик [5]. Номенклатура приведенных видов дана согласно сводке «Список лишенофлоры России» [6] с некоторыми современными изменениями [7], авторы таксонов – в соответствии с Authors of Fungal Names, version 2 [8]. Образцы хранятся в гербарии Ярославского государственного университета им. П.Г. Демидова (YAR).

На территории ПП на сегодняшний день обнаружено 35 видов из 18 родов, принадлежащих 9 семействам. Наибольшим видовым разнообразием отличаются сем. *Parmeliaceae* (8 видов, 21,9%), *Physciaceae* (7 видов, 18,8%), *Lecanoraceae* и *Cladoniaceae* (по 6 видов, по 18,8%). На долю остальных семейств приходится 3,1–12,5% видов. Таксономический спектр выявленной лишенобиоты представлен в таблице.

В составе жизненных форм преобладают листоватые виды (43 %), накипные биоморфы составили 31 %, чешуйчато-кустистые – 17% и кустистые – 9%. Подавляющее большинство выявленных представителей относится к эпифитной экологической группе. Напочвенный лишайниковый покров не развит, лишайники формируют внеярусные синузии, поселяясь в нижней части стволов, валеже и пнях древесных пород, что вполне объяснимо, учитывая хорошо развитый травянистый ярус.

Среди выявленных на сегодняшний день лишайников особый интерес представляют 4 вида. Вид *Phaeophyscia ciliata* включен в Красную книгу ЯО, категория 3 – «редкий» [9]. Этот вид обитает на гладкой коре лиственных деревьев (особенно осин), встречен на корке тополя, 25.08.2019, leg. et det. Кондакова Г.В.

Cladonia cervicornis – редкий для ЯО вид, третья находка в ЯО. Обнаружен на древесине пня липы, 18.08.2014, leg. Герасимова Н.Е., det. Мучник Е.Э., 05.02.2015; у основания пня, 02.08.2020, leg. et det. Кондакова Г.В. На основании многолетних исследований региональной лишенобиоты и проведенного анализа встречаемости вида,

этот вид рекомендуется к занесению в Красную книгу ЯО в дополнение к имеющемуся списку [10].

Табл. 1. Таксономический спектр лишайников, выявленных на территории ПП «Барская усадьба с. Артемьево»

Семейство	Число родов	Род	Число видов	Вид
Candelariaceae	1	Candelariella	1	<i>C. xanthostigma</i> (Ach.) Lettau
Cladoniaceae	1	Cladonia	6	<i>C. arbuscula</i> (Wallr.) Flot.
				<i>C. cervicornis</i> (Ach.) Flot.
				<i>C. chlorophaea</i> (Flörke ex Sommerf.) Spreng.
				<i>C. coniocraea</i> (Flörke) Spreng.
				<i>C. fimbriata</i> (L.) Fr.
				<i>C. gracilis</i> (L.) Willd.
Lecanoraceae	1	Lecanora	6	<i>L. allophana</i> var. <i>campestris</i> (Schaer.) Pachunoff (= <i>Lecanora campestris</i> (Schaer.) Hue)
				<i>L. argentata</i> (Ach.) Malme
				<i>L. dispersa</i> cf. (Pers.) Sommerf.
				<i>L. intumescens</i> (Rebent.) Rabenh.
				<i>L. leptyroides</i> (Nyl.) Degel. (= <i>Glaucomaria leptyroides</i> (G.B.F. Nilsson) S.Y. Kondr., Lökös & Farkas)
				<i>L.symmicta</i> (Ach.) Ach.
Parmeliaceae	6	Evernia	2	<i>E. mesomorpha</i> Nyl.
				<i>E. prunastri</i> (L.) Ach.
		Hypogymnia	2	<i>H. physodes</i> (L.) Nyl.
				<i>H.tubulosa</i> (Schaer.) Hav.
		Melanohalea	1	<i>M. olivacea</i> (L.) O. Blanco et al.
		Parmelia	1	<i>P. sulcata</i> Taylor
		Platismatia	1	<i>P. glauca</i> (L.) W.L. Culb. & C.F. Culb.
		Pseudevernia	1	<i>P. furfuracea</i> (L.) Zopf
Peltigeraceae	1	Peltigera	1	<i>P. canina</i> (L.) Willd.
Phlyctidaceae	1	Phlyctis	1	<i>Ph. argena</i> (Spreng.) Flot.
Physciaceae	3	Phaeophyscia	2	<i>Ph. ciliata</i> (Hoffm.) Moberg
				<i>Ph. orbicularis</i> (Neck.) Moberg
		Physcia	2	<i>Ph. adscendens</i> (Fr.) H. Olivier
				<i>Ph. stellaris</i> (L.) Nyl.
		Physconia	3	<i>Ph. deterosa</i> (Nyl.) Poelt
				<i>Ph. distorta</i> (With.) J.R. Laundon
Teloschistaceae	3	Athallia	1	<i>A. pyracea</i> (Ach.) Arup, Frödén & Søchting
		Caloplaca	1	<i>C. cerina</i> (Hedw.) Th. Fr.
		Xanthoria	2	<i>X. parietina</i> (L.) Th. Fr.
				<i>X. polycarpa</i> (Hoffm.) Th. Fr. ex Rieber (= <i>Polycauliona polycarpa</i> (Hoffm.) Frödén, Arup & Søchting)
		Ramalinaceae	1	Lecania
Итого: 9	18 родов		35 видов	

Lecanora intumescens и *L. leptyroides* – два редких для ЯО вида, ранее были отмечены только в Угличском МР, на биостанции ЯрГУ «Улейма» [11, 12]. На территории ПП «Барская усадьба с. Артемьево» вид *L. intumescens* обнаружен на корке липы, 18.08.2014, leg. Герасимова Н.Е., det. Мучник Е.Э., 27.10.2014; на корке тополя, 02.08.2020, leg. et det. Кондакова Г.В.; из соседних областей отмечен в Тверской [13], Ивановской [14], Владимирской областях [15]. Вид *L. leptyroides* обнаружен на корке липы, 18.08.2014, leg. Герасимова Н.Е., det. Мучник Е.Э., 27.10.2014; из соседних областей отмечен в Ивановской [14], Московской [16].

Таким образом присутствие редких и охраняемых видов лишайников подчеркивает особую ценность территории ПП «Барская усадьба с. Артемьево» для сохранения биоразнообразия лишайнобиоты ЯО.

Автор выражает благодарность докт. биол. наук Е.Э. Мучник (Институт лесоведения РАН, Москва, Россия) за проверку определений и помощь в идентификации накипных форм.

Список литературы

Широчин П.М. Дворяне Селифонтовы, крестьяне Бирюковы и Кувалдины. Мышкин: Мышкинский народный музей, 2001.- 154 с.

1. Артемьево // Ярославские усадьбы. М.: Некоммерческое партнерство «Русская усадьба», 2016. С. 58-59.
2. Кадастровый отчет по ООПТ памятник природы регионального значения «Барская усадьба с. Артемьево» // ИАС «ООПТ России». URL: <http://oopt.aari.ru> (дата обращения: 26.03.2024).
3. Об утверждении режима особой охраны территорий памятников природы регионального значения в Ярославской области // Постановление Правительства Ярославской области от 2 ноября 2017 года N 823-п (с изменениями на 22 августа 2023 года) // Электронный фонд нормативно-технической и нормативно-правовой информации Консорциума «Кодекс». URL: <https://docs.cntd.ru/document/450369605?marker> (дата обращения 26.03.2024).
4. Степанчикова И.С., Гагарина Л.В. Сбор, определение и хранение лишайнологических коллекций. В кн.: Флора лишайников России: биология, экология, разнообразие, распространение и методы изучения лишайников. М., СПб., Товарищество научных изданий КМК, 2014. С. 204–219.
5. Список лишайнофлоры России. / Сост. Урбанавичюс Г. П., отв. ред. Андреев М. П. СПб.: Наука, 2010. 194 с.

6. Index Fungorum (Electronic resource) // Сайт базы данных «Index Fungorum». – URL: <http://www.indexfungorum.org> (дата обращения: 26.03.2024).
7. Authors of fungal names. (Electronic resource). Version 2. January 2003. URL: <http://www.indexfungorum.org/FungalNameAuthors.doc> (дата обращения: 26.03.2024).
8. Красная книга Ярославской области. Ярославль: Академия 76, 2015. С. 49-50.
9. Мучник Е.Э., Кондакова Г.В., Конорева Л.А., Пауков А.Г. Новые и редкие лишайнологические находки в Ярославской области (Центральная Россия) // Вестник ТвГУ. Сер. Биология и экология, 2018. № 1. С. 171–182.
10. Мучник Е.Э., Кондакова Г.В., Вяттер А.С., Герасимова Н.Е. О новых видах лишайников Ярославской области // Вестник ТвГУ. Сер. Биология и экология, 2014. № 2. С. 124–129.
11. Кондакова Г.В. О лишайнологических исследованиях на территории биологического стационара ЯрГУ «Улейма» (Ярославская область) // Современная Микология в России. Материалы III Международного микологического форума. М.: Нац. акад. микол., 2015. Т.4. – С. 338 – 339.
12. Нотов А.А., Гимельбрант Д.Е., Урбанавичюс Г.П. Аннотированный список лишайнофлоры Тверской области. Тверь: Изд-во Твер. гос. ун-та, 2011. 124 с.
13. Малышева Н.В. Материалы к флоре лишайников Ивановской области // Новости систематики низших растений. М.: Наука, 1986. Т. 23. С. 99 – 107.
14. Жданов И.С., Волоснова Л.Ф. Материалы к лишайнофлоре Мещёрской низменности (в пределах Владимирской и Рязанской областей) // Новости систематики низших растений. СПб., М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. Т. 46. С. 145 – 160.
15. Бязров Л.Г. 2009. Видовой состав лишайнобиоты Московской области. Версия 2. 2009. – URL: http://www.sevin.ru/laboratories/biazrov_msk.html (дата обращения: 26.03.2024).

ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ДАННЫХ ОБ ЭЛЕМЕНТНОМ СОСТАВЕ ЛИШАЙНИКОВ В БИОИНДИКАЦИИ

Мейсурова А.Ф., Нотов А.А.
Тверской государственный университет

Уровень антропогенного влияния на природные экосистемы стремительно возрастает, что определяет необходимость осуществления их биоиндикации и мониторинга. Актуальна разработка комплексных подходов, позволяющих учитывать специфику реагирования живых объектов, представляющих разные группы индикаторных видов. При этом следует учитывать разные направления воздействия на ландшафты. Одно из них связано с быстрым техногенным загрязнением природной среды, другое – с трансформацией растительного покрова в результате резкого сокращения площади лесных массивов. Для оценки состояния экосистем важна информация о физиологических параметрах живых организмов и сведения о характере поглощения экотоксикантов.

В качестве модельных объектов для подобного комплексного подхода интересны лишайники [1]. Среди них можно подобрать виды, представляющие разные группы индикаторов. Высокая сорбционная способность обусловила их широкое использование в качестве индикаторов уровня техногенного загрязнения [2–3]. Не менее интересны лишайники и как индикаторы био-

логически ценных лесов (БЦЛ) [4]. Они позволяют оценивать степень трансформации лесных и лесоболотных массивов, целостность которых во многих регионах очень быстро уменьшается. Однако эколого-физиологические особенности этих видов еще недостаточно изучены, а характер поглощения ими экотоксикантов еще не выявлен. Исследования с использованием этих различных групп индикаторов проводятся независимо. Однако в настоящее время урбоэкосистемы уже стали компонентами крупных природных территориальных комплексов, что делает актуальным сопряженный анализ этих существенно различающихся ландшафтных элементов.

Нами начата разработка подхода, ориентированного на использование данных об эколого-физиологических параметрах и элементном составе видов лишайников с разной антропоотолерантностью в биоиндикации [5–6]. В качестве модельных использованы близкородственные виды из семейства Parmeliaceae Zenker. Среди них представлены различные группы индикаторов с разной устойчивостью к техногенному загрязнению и трансформации растительного покрова. Особенно ин-

тересны в этом отношении виды рода *Hypogymnia* (Nyl.) Nyl. [5], которые контрастно различаются по степени антропоотолерантности. Некоторые устойчивы к умеренному техногенному загрязнению, другие не выдерживают даже незначительных изменений микроклимата и произрастают преимущественно в целостных лесных массивах, становясь уязвимыми к вырубкам и другим видам нарушения. *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., *Parmelia sulcata* Taylor — обычные виды, которые распространены в рекреационных зонах городов и устойчивы к загрязнению и нарушению структуры биоценозов; *Hypogymnia tubulosa* (Schaer.) Nav. — встречается sporadически, в урбозекосистемах сохраняется крайне редко и достаточно чувствителен к антропогенным сукцессиям лесных сообществ [2—3, 5—6]. *Hypogymnia vittata* (Ach.) Parrique — очень редкий уязвимый вид, весьма чувствительный к антропогенной трансформации природных экосистем и изменениям микроклиматических условий [5]. Последний вид распространен исключительно в крупных целостных лесоболотных массивах со стабильным режимом влагообеспеченности воздуха, включен в Красные книги разных регионов Центральной и Северо-Западной Европейской России.

Сбор материала проведен в Тверской области, характеризующейся большой гетерогенностью природных комплексов и сложной хозяйственно-экономической инфраструктурой [5—6]. Образцы разных модельных видов собирали в одном местообитании и по возможности с одного дерева.

Для каждого из собранных образцов лишайников были проанализированы разные физиолого-биохимические характеристики по стандартным методикам. С помощью спектрофотометрического метода определены уровни содержания хлорофиллов *a* и *b* (Хла, Хлб), фенольных соединений (ФС), антиоксидантная активность (АОА) и амперометрическим методом выявлена антирадикальная активность (АРА) [5—6]. Элементный состав (макро- и микроэлементы, тяжелые металлы и металлоиды (ТМ)) в образцах лишайников выявлены с помощью АЭС-ИСП-спектрометра iCAP 6300 Duo (Thermo Scientific, США) по стандартной методике. Полученные данные о содержании элементов сравнили с фоновыми значениями для Тверского региона. Статистическая обработка данных проведена с помощью стандартных методов математической статистики и использованием лицензионных программных продуктов Microsoft Office Excel 2013 и IBM SPSS Statistics 23.

Оценка физиолого-биохимических характеристик показала различия значений в зависимости от антропоотолерантности у изученных видов. По параметрам фотосинтетической (Хла+b, Хла и Хлб) и защитных систем (ФС, АОА, АРА) модельные виды образуют ряд, в котором значения этих показателей уменьшаются: *H. physodes*, *P. sulcata*—*H. tubulosa*—*H. vittata*. Исследование характера взаимосвязей физиологических параметров, связанных с процессом фотосинтеза и защиты, показало различия в целостности системы корреляционных взаимосвязей у видов в этом ряду (рис. 1). Наиболее скоординированная и целостная система сильных корреляционных взаимосвязей физиолого-биохимических характеристик выявлена у *H. physodes* и *P. sulcata*. Эта особенность сочетается с широким адаптационным потенциалом и максимальной антропоотолерантностью. У редкого вида *H. vittata*, являющегося индикатором БЦЛ [6], самые низкие значения физиолого-биохимических показателей и наименее целостная система их корреляционных связей сопряжены с наиболее выраженной

чувствительностью к различным вариантам антропогенного воздействия и крайне высокой уязвимостью. По степени проявления всех отмеченных свойств *H. tubulosa* занимает промежуточное положение.

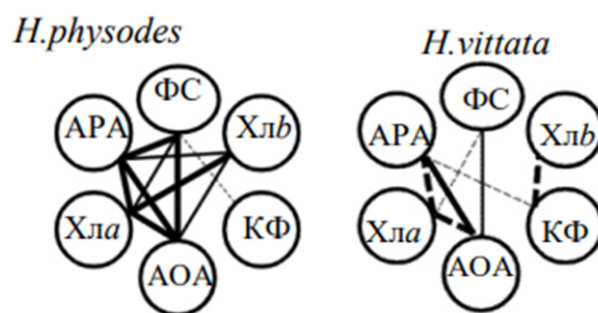


Рис. 1. Корреляционные связи физиолого-биохимических параметров у видов *Hypogymnia*: прямые — сплошные линии (жирная, $r = 0.90—1.0$, среднее толщины, $r = 0.80—0.89$, тонкая, $r = 0.70—0.79$); обратные — штриховые (жирная, $r = 1.0—-0.90$, средней толщины, $r = -0.89—-0.80$, тонкая, $r = -0.79—-0.70$)

С помощью АЭС-ИСП-спектроскопии у изученных видов обнаружили 23 элемента, среди которых макро- и микроэлементы, ТМ. Количественный анализ показал, что максимальные концентрации большинства элементов обнаружены в образцах у редкого вида *H. vittata*. Выяснено, что у изученных видов имеются различия в системе корреляционных связей между физиолого-биохимическими характеристиками и содержанием элементов, что обусловлено в том числе спецификой состава вторичных метаболитов, которые определяют адаптивные реакции [2]. Высокая степень координации системы функциональных взаимосвязей у *H. physodes* объединена с набором элементов, содержание которых коррелирует с физиолого-биохимическими параметрами. В этом наборе присутствуют все макроэлементы (К, Са, Mg, Na), большинство ТМ (все, кроме Pb и Sn) и некоторые микроэлементы (Ba, Zn, Li). Такая взаимосвязь проявляется в повышенной устойчивости данных видов к различным антропогенным воздействиям, включая загрязнение окружающей среды и изменения микроклиматических условий местообитания. Более низкий уровень сопряженности физиолого-биохимических параметров характерен для редкого вида *H. vittata*, который имеет ограниченное число коррелирующих с ними элементов. Однако в его составе в основном присутствуют ТМ (Al, As, Pb и V) и лишь некоторые макро- и микроэлементы.

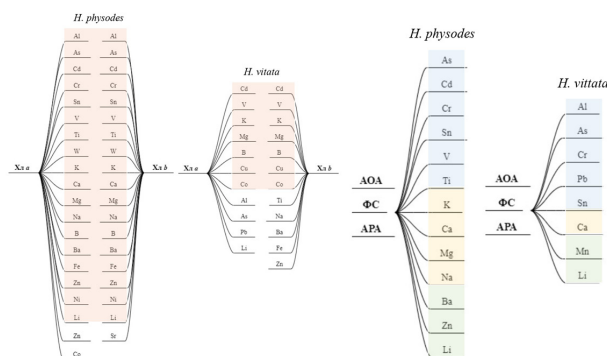


Рис. 2. Состав элементов, содержание которых проявляет значимые корреляционные связи ($r = 0.70—1.0$, $r = -1.0—-0.70$) с параметрами пигментной системы (Хла, Хлб) и параметрами системы защиты (АОА, ФС, АРА), у видов *Hypogymnia*

Таким образом, уровни активности фотосинтетической системы и параметры, связанные с функционированием системы защиты, у изученных видов лишайников различаются. Выяснено, что эти системы в разной степени скоординированы и сопряжены между собой у видов с разной антропоотолерантностью. У редких видов уровни фотосинтетической и защитной систем существенно ниже, чем у устойчивых видов. У видов с низкой антропоотолерантностью целостность системы корреляционных взаимосвязей между параметрами крайне низкая. Основные функциональные параметры у этих видов в большей степени сопряжены с содержанием токсичных элементов по сравнению с макро- и микроэлементами, что делает их более уязвимыми при загрязнении среды или изменении условий произрастания. Виды со значительной антропоотолерантностью отличаются наибольшей функциональной целостностью характеристик, физиологические параметры в меньшей степени сопряжены с токсичными элементами, в большей — с макро- и микроэлементами. Сравнительное изучение индикаторов умеренного техногенного загрязнения и БЦЛ позволило выявлять физиологические факторы уязвимости редких видов, а также понять механизмы адаптаций к антропогенному стрессу у разных видов лишайников.

Развитие комплексного подхода с использованием разных данных о физиолого-биохимических параметрах и элементном составе лишайников будет способствовать реализации системного подхода к фундаментальным проблемам экологической физиологии и биоиндикации. В связи с разнообразием вариантов антропогенного воздействия актуально дальнейшее изучение групп индикаторных видов с помощью физико-химических методов. Оно позволит выявить универсальные и специфические механизмы реагирования представителей этих групп на различные формы динамики экотопов и местообитаний, выяснить возможные способы адаптации к антропогенному стрессу.

РОЛЬ ЛИХЕНОБИОТЫ В КУЛЬТУРНО-ИСТОРИЧЕСКОМ ОБЛИКЕ ПАМЯТНИКОВ АРХИТЕКТУРЫ

Пчелкин А.В.

Институт географии РАН, Москва

Развитие эпилитной лишенобиоты на памятниках архитектуры в научном сообществе воспринималось двояко. С одной стороны, развитая эпилитная лишенобиота на архитектурных памятниках всегда свидетельствовало об их древности, но, с другой стороны, существуют работы, в которых утверждается, что эпилитные лишайники способствуют разрушению каменного субстрата, из которого сложены крепостные стены монастырей, стены зданий, гранитные и мраморные памятники и т.д. Нередки случаи, когда лишенобиоту с памятников культуры удаляли, мотивируя тем, что лишайники наносят вред субстрату, разрушая его. Эстетический аспект эпилитного лишайникового покрова, безусловно, является восприятием субъективным, однако декоративность лишайников доказывает тот факт, что стабилизированные талломы, например, одного из самых декоративных эпигейных лишайников, *Cladonia stellaris*, широко используют в оформлении фитостен, фитовставок и фитопанно. Из лишайников определенную эстетическую составляющую имеют ярко окрашенные

Список литературы

1. Conti M.E., Cecchetti G. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment – A review . *Environmental Pollution*. 2001. Vol. 114. Iss. 3. P. 471—492.
2. Трифонова Т.А., Салмин А.С. Использование лишайника *Hypogymnia physodes* в качестве аккумулятивного биоиндикатора техногенного загрязнения атмосферы . Юг России: экология, развитие. 2019. № 14(2). С. 150—163.
3. Parzych A., Zduńczyk A., Astel A. Epiphytic lichens as bioindicators of air pollution by heavy metals in an urban area (northern Poland) . *Journal of Elementology*. 2016. Vol. 21(3). 781—795.
4. Гимельбрант Д.Е., Кузнецова Е.С. Лишайники . Выявление и обследование биологически ценных лесов на Северо-Западе Европейской части России: учеб. пособие. 2-изд., доп. И перераб. Т. 2: Пособие по определению видов, используемых при обследовании на уровне выделов. СПб. С. 93—138.
5. Мейсурова А.Ф., Нотов А.А., Пунгин А.В., Скрыпник Л.Н. Использование оптической спектроскопии для анализа физиологических показателей и элементного состава у лишайников рода *Hypogymnia* с разной антропоотолерантностью . Журнал прикладной спектроскопии. 2024. Т. 91, № 1 С. 74–86.
6. Meysurova A.F., Notov A.A., Pungin A.V., Skrypnik L.N. Application of optical spectroscopy for the analysis of physiological characteristics and elemental composition of some lichen species . *Journal of Applied Spectroscopy*. 2021. Vol. 88, No. 5. P. 987–998.

виды (например, *Xanthoria elegans*, *Calogaya decipiens*, *Rhizocarpon geographicum*) или образующие талломные розетки (*Protoparmeliopsis muralis*, *Xanthoria parietina*), а также некоторые накипные (например, *Candelariella vitellina*, массово развивающаяся на деревянных лемехах старых церквей, окрашивая их в золотистый цвет, напоминающий позолоту). Некоторые строительные фирмы специально имитируют эпилитное лишайниковое покрытие, например, узор «Лишайник» мягкой кровли фирмы Rulflex Sota, отдаленно напоминающий покрытие субстрата накипными эпилитными лишайниками. Известны примеры стимулирования развития лишенобиоты на зданиях для придания им старинного вида [1]. Старинные памятники архитектуры, расположенные в относительно малозагрязненных районах, обычно со временем покрываются эпилитными лишайниками, подобно кракелюрам на живописных полотнах старинных мастеров или благородной патины на старинных бронзовых скульптурах. Ценность оригинала памятника архитектуры – именно в нашем осознании того, что

это оригинал, т.е. оценка существует только в сознании человека, как и ценность любого произведения искусства. При этом чем больше исторических событий связано с тем или иным архитектурным памятником, тем он ценнее. Но древности сопутствуют внешние атрибуты, возникающие со временем. Несоответствие приводит к когнитивному диссонансу: очень сложно убедить в древности какого-нибудь строения, если оно построено из недавно сделанного бруса – эта проблема нередко возникает при реставрационных работах. Поэтому, для подчеркивания древности, используют специальные приемы, имитирующие старину: искусственное кракелюрование, патинирование, чернение. Кракелюры – маленькие трещины, которые со временем появляются на живописных полотнах, написанных, в основном, в технике масляной живописи, в процессе старения. И хотя раньше художники при написании картин старались подбирать специальный состав красок, чтобы как можно дольше сохранить свою картину от появления кракелюрной сетки, со временем кракелюры приобрели свою особую художественную ценность. Следует отметить, что для придания старинного облика картинам, часто практикуют различные методы, имитирующие кракелюры. Наиболее распространен самый простой метод – использование одно- или двухкомпонентного кракелюрного лака. Создание искусственной благородной патины – патинирование и оксидирование бронзы, меди или латуни, позволяют сделать изделия из этих металлов более привлекательными, придать им налет благородной старины. Существует множество способов, при помощи можно получить патину различных оттенков, чернь серебра. Таким образом патина, чернение и кракелюры только подчеркивают древность историко-культурных ценностей. Кустистые эпифитные виды лишайников, такие как представители родов *Bryoria*, *Usnea*, свисающие с ветвей деревьев, придают особый, сказочный облик северным лесам. Однако эстетический аспект эпилитного лишайникового покрова отступает на второй план, если лишайники действительно разрушают субстрат, на котором произрастают. Вопрос о роли эпилитных лишайников в процессе разрушения скального субстрата остается дискуссионным. В природе доминируют принципы целесообразности, экономии энергозатрат, оптимальности, стремления вида к выживанию и максимально возможному распространению. Так, например, гадюка может укусить человека только в крайнем случае – при непосредственной угрозе своей безопасности; обычно она всегда старается уползти: производство яда энергетически затратно, он необходим во время охоты, но человек не является потенциальной добычей, а кроме того, может нанести травму. Патогенные вирусы, перейдя с природного носителя на популяцию человека, эволюционируют в сторону увеличения контагиозности и уменьшения летальности: совершенно нецелесообразно убивать хозяина, который должен как можно дольше служить источником инфекции. Гепард без боя уступает добычу гиенам: этому эффективному охотнику проще поймать новую добычу, чем, получив травму, лишиться себя возможности охоты вообще. С биологической точки зрения ни один аборигенный вид, длительное время существующий на определенной территории и образовавшийся в ходе длительного эволюционного процесса, не будет разрушать собственную среду обитания, что в целом справедливо и для большинства видов лишайников. Особый случай – эндолитные кальцефильные лишайники, например, *Bagliettoa calciseda*, или *Verrucaria rupestris*, фор-

мирующие углубления в известняке, что отчасти защищает их от механических повреждений, при этом, как арматурой, укрепляя стенки образовавшихся лунок, гифами микобионта, что отчасти предохраняет субстрат от абиотического выветривания. Часть исследований, в которых утверждалась деструктивная роль эпилитных лишайников [2, 3], базировалась на обнаружении грибных гиф в межзерновых пространствах скальной породы, на более рыхлой структуре субстрата под талломами и выделяемой некоторыми видами щавелевой кислоты. Так, гифы микобионта накипного эпилитного лишайника *Lecidea sarcogynoides* проникали в песчаник на глубину 3,21 мм и в кварцит – на 1,12 мм. Тем не менее, закономерен вопрос, который ставят многие исследователи: произошло ли разрыхление субстрата в результате деятельности лишайников, или же лишайники предпочитают селиться на камнях, уже подвергшихся абиотическому выветриванию [4, 5]. Как указывает Д. Пинна [6], обнаружение микроорганизмов-биообратателей (включая лишайники) не означает, что они априори являются биодеструкторами, а пространства между зерен гранита достаточно велики, чтобы гифы микобионта проникли в межзерновое пространство и без специального давления. Ряд исследователей указывает на положительную роль эпилитного лишайникового покрова в предохранении скального субстрата от абиотического выветривания [6, 7, 8, 9, 10]. Лишайники, произрастающие на кровле деревянных строений в Суздальском музее деревянного зодчества, жилые крестьянские дома и множество хозяйственных построек: мельницы, амбары, бани в этнографической деревне Костромского архитектурно-этнографического и ландшафтного музея-заповедника «Костромская слобода» только подчеркивают их древность. Без атрибутов древности строения, какими бы они ни были идентичными, вызывают ощущение «новодела», например, дворец Алексея Михайловича, воссозданный в Коломенском, кирпичная стена Новгородского кремля. Наглядный пример – Соловецкий монастырь является культурно-историческим памятником с богатой историей, стены которого были покрыты лишайниковым покровом из *Xanthoria elegans*, частично удаленном при реставрационных работах. Стены монастыря, после удаления лишайников приобрели нехарактерную пятнистость и выглядят как новодел. Поэтому лишайниковый покров из *Xanthoria elegans* на его стенах следует воспринимать, как неизбежный атрибут, подчеркивающий древность монастырских стен и их историко-культурную ценность. Таким образом, в большинстве случаев лишайниковое покрытие служит как эстетическому восприятию памятников архитектуры, так и подчеркивает их древность

Список литературы

1. Richardson D.H.S., 1975. The vanishing lichens: their history, biology and importance. -Newton Abbot: David and Charles. 231 p.
2. Ascaso C., Sancho L.G., Rodriguez-Pascual C. 1990. The weathering action of saxicolous lichens in maritime Antarctica. – Polar Biology, . 11, pp. 33 -39.
3. Piervittori R., Salvadori O., Isocrono D., 2004. Literature on lichens and biodeterioration of stonework, IV* – The Lichenologist, 36(2): 145-157.
4. Bakkevig S. 2004. Rock Art Preservation: Improved and Ecology-based Methods can give Weathered Sites Prolonged Life. – Norwegian Archaeological Review, vol. 37, no. 2, pp. 65-81.
5. Walderhaug, O., Walderhaug, E.M., 1998. Weathering of Norwegian rock art – a critical review. – Norwegian Archaeological Review, vol. 31, no. 2, pp. 119-139.

6. Pinna D., 2014. Biofilms and lichens on stone monuments: do they damage or protect? – *Frontiers in Microbiology. Microbiotechnology, Ecotoxicology and Bioremediation*. April 2014, vol. 5. Article 133, pp. 1-3.
7. Ariño X., Ortega-Calvo J. J., Gomez-Bolea A., and Saiz-Jimenez C., 1995. Lichen colonization of the Roman pavement at Baelo Claudia (Cadiz, Spain): biodeterioration vs. bioprotection. – *Sci. Total Environ*, no. 67, pp. 353–363.
8. Drewello R., Drewello U.G., 2000. Flechten auf Denkmälern: Indikatoren und Vermittler zwischen Denkmal- und Naturschutz. –

Rundegespräche der Kommission für Ökologie, Bd. 36 “Ökologische Rolle der Flechten”, pp. 161-180.

9. Hoppert M., Flies C., Pohl W., Günzl B., Schneider J. 2004. Colonization strategies of lithobiontic microorganisms on carbonate rocks. – *Environ. Geol.*, N 46, issue 3-4, pp. 421–428.

10. Wendler, E., Prasartet, C., 1999. Lichen growth on old Khmer-style sandstone monuments in Thailand: damage factor of shelter? – *Proceedings of the 12th Triennial Meeting of the ICOM Committee for Conservation*, vol. 2 (Lyon), pp. 750–754.

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ЛИШАЙНИКОВ РОДА *CLADONIA* МЕТОДОМ СТАБИЛИЗАЦИИ

Пчелкин А.В.

Институт географии РАН, Москва

Морфологические особенности лишайников являются важнейшими характеристиками, используемых при видовой идентификации, которую преподают на практикумах по лихенологии в различных высших учебных заведениях. Учащиеся должны освоить определение лишайников с использованием дихотомических, ступенчатых ключей, компьютерных, интерактивных программ. При этом студенты приобретают знания о морфологических особенностях различных видов лишайников [1, 2, 3], их родственных связях, экологических группах; во время видового определения материала учащиеся должны научиться проводить химические реакции, имеющие важное диагностическое значение в ключах для определения лишайников, уметь самостоятельно определять лишайники. Для этого, как правило, используют гербарный материал, когда лишайники для удобства хранения высушены воздушной сушкой в ботаническом прессе для гербариев и сушки растений. Талломы лишайников при этом получаются плоскими, что часто затрудняет изучение таких морфологических признаков, как наличие или отсутствие перфораций на сцифах, не всегда хорошо виден характер ветвления подцеи. Частично эту проблему решают размачиванием таллов лишайников, однако поскольку учебный гербарий лишайников для видовой идентификации используют многократно, то после размачивания таллов им для хранения требуется последующая сушка под тем же ботаническим прессом. Высушенные же без пресса талломы лишайников, хотя и сохраняют свою объемную структуру, но очень хрупкие и в процессе изучения студентами подвергаются многократному воздействию и разрушаются. Периодическое размачивание и последующая сушка таллов не лучшим образом сказываются на сохранности учебного гербария лишайников. Хорошей альтернативой размачиванию является процесс стабилизации таллов лишайников, заключающийся в пропитке специальными составами, сохраняющими мягкость таллов и их 3D-структуру даже после воздушной сушки. Стабилизированные лишайники р. *Cladonia* под названием «стабилизированный мох» широко используют в создании фитостен и ландшафтном макетировании. Обычно для этих целей лишайники в процессе стабилизации окрашивают различными красителями. Поэтому для видовой идентификации лучше всего проводить собственную стабилизацию конкретных видов, без какого-либо окрашивания, которые будут использованы в практикуме по лихенологии. Для усиления педагогического эффекта такую стабилизацию можно проводить силами самих студентов, по-

скольку сам процесс стабилизации достаточно прост и не представляет трудности для учащихся. Проще всего использовать стабилизирующие составы на основе глицериновой пропитки, содержащей 15-30% глицерина, которая относительно дешева и нетоксична, а следовательно, абсолютно безопасна для студентов. На практике процесс стабилизации лишайников оптимально проводить как минимум за сутки до изучения студентами морфологии при видовой идентификации, что нужно для испарения излишней влаги. Разумеется, при стабилизации видовая принадлежность не должна быть известна студентам. Если на практикуме по лихенологии присутствуют несколько студентов, можно для видовой идентификации предложить каждому учащемуся или группе учащихся стабилизировать именно тот вид, морфологию которого они будут изучать. Для эффективности использования стабилизированных лишайников в студенческом практикуме по лихенологии учащимся было предложено сделать сравнительную оценку стабилизированных лишайников и сухих гербарных образцов по 5-балльной шкале (где 5 – наивысшая оценка, 1 – наименьшая) по трем критериям: 1 – устойчивость таллов к разрушению в процессе их изучения; 2 – удобство изучения морфологии; 3 – удобство проведения химических реакций. В эксперименте участвовали 5 студентов 4-го курса кафедры экологии и географии растений Биологического факультета МГУ [4]. Результаты сравнительного теста приведены в Таблице 1.

Результаты сравнительного тестирования показали, что в целом при изучении морфологии студенты дали более высокую оценку стабилизированным лишайникам по сравнению с контрольными, нестабилизированными. Однако стабилизированные лишайники не следует хранить в бумажных конвертах, т.к. при этом происходит диффузия стабилизирующего состава из таллов в бумагу; лучше всего для хранения пригодны пластиковые емкости. Как и обычные гербарные образцы, стабилизированные лишайники желательно хранить в темноте. Со временем талломы несколько желтеют, как и сухие гербарные образцы, что в целом не мешает изучению их морфологии. У красноплодных лишайников, таких как *Cladonia coccifera*, *Cladonia bellidiflora* ярко-красные апотеции постепенно становятся красно-коричневыми, что также нужно учитывать. Наиболее удобна стабилизация лишайников при изучении морфологии «группы *Cladina*»: *Cladonia stellaris*, *Cladonia arbuscula*, *Cladonia mitis*, *Cladonia rangiferina*, *Cladonia stygia* и др. Для изучения этих видов можно использовать, не только глицериновую, но и ми-

нерально-солевую стабилизацию, которая менее пожа-роопасна.

Табл. 1. Результаты оценки удобства изучения лишайников по пятибалльной шкале (КТ – талломы без пропитки; GL –талломы, стабилизированные глицериновой пропиткой)

Критерии оценки	Студенты	Виды лишайников, пропитка (КТ – без пропитки; GL –стабилизированные глицериновой пропиткой)									
		<i>Cladonia arbuscula</i>		<i>Cladonia stellaris</i>		<i>Cladonia rangiferina</i>		<i>Cladonia uncialis</i>		<i>Cladonia crispata</i>	
		КТ	GL	КТ	GL	КТ	GL	КТ	GL	КТ	GL
Устойчивость талломов	1	4	5	4	5	4	5	4	5		
	2	3	5	2	5	4	5	4	5		
	3	4	5	3	5	3	5	3	5	2	5
	4	4	5	5	5	3	5	3	5		
	5			3	5	4	5	4	5	2	5
Изучение морфологии	1	2	5	3	5	2	5	2	5		
	2	2	5	2	5	2	5	2	5		
	3	2	5	2	4	2	5	2	5	2	5
	4	2	5	2	5	2	5	2	5		
	5			2	4	2	5	2	5	2	4
Химические реакции	1	5	4	4	5	4	5	4	4		
	2	5	4	4	5	4	5	4	4		
	3	5	4	5	5	5	5	4	4	5	5
	4	5	4	5	4	2	5	4	3		
	5			5	5	5	4	4	4	5	4
Среднее		3,6	4,6	3,4	4,8	3,2	4,9	3,2	4,6	3	4,7

Список литературы

1. Мучник Е.Э., Инсарова И.Д., Казакова М.В. 2011. Учебный определитель лишайников Средней России: учебно-методическое пособие. Ряз. Гос. Ун-т им. Есенина. Рязань. 360 с.

2. Толпышева Т.Ю., Шишконокова Е.А. 2023 Определитель лишайников болот бореальной и тундровой зон России. Изд-во МГУ, Москва, ISBN 978-5-19-011844-5, 464 с.

3. Определитель лишайников СССР. Вып. 5. Кладониевые-Акароспоровые. – Л., Наука, 1978. 305 с.

4. Пчелкин А.В., 2019. Использование стабилизированных лишайников в учебном процессе // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический, Изд-во МГУ, Москва, том 124, № 4, с. 48-54

МАКРОЛИШАЙНИКИ МОСКОВСКОГО РЕГИОНА

Толпышева Т.Ю.¹, Пчелкин А.В.²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
²Институт географии РАН, Москва

Московский регион – неофициальное название территории, включающей Москву и Московскую область. Площадь региона 46 861 000 км², в том числе 2 561 000 км² – г. Москва и 44 300 000 км² – Московская область.

Современный рельеф Московского региона - это равнинные возвышенности на западе и севере области, достигающие 300-метровой высоты и переходящие в равнины и низменности заболоченной Мещеры на востоке.

В Московской области выделяют основные виды почв: подзолистые (таежной природной зоны), дерново-подзолистые (зоны смешанных лесов), серые лесные (зоны широколиственных лесов), чернозёмы (лесостепной зоны). Для г. Москвы характерны урбаноземы. Гор-

ные породы региона представлены осадочными породами: пески, глины, моренные и покровные суглинки, карбонатные породы (известняки, доломиты), кремнистые породы (трепелы, опока). На территории области известняки широко распространены по берегам рек и оврагов.

Климат Московского региона умеренно континентальный, переходный от мягкого европейского к резкоконтинентальному азиатскому. Лето тёплое, зима умеренно холодная с устойчивым снежным покровом. Среднегодовая температура региона от +3,7 до +3,8 С и по разным данным даже до +5,8°С. Среднегодовое количество осадков 540 - 650 мм (с колебаниями от 270 мм до 900 мм). Максимум выпадения осадков приходится

на летний сезон, минимум - на зимний; две трети осадков выпадает в виде дождя, треть - в виде снега. Москва в этом отношении несколько отличается от области – для мегаполиса характерен куполообразный «остров тепла»: температура в целом по городу на 2°С выше, чем в Подмосковье, что соответствует температуре 150-200 км южнее; центр города теплее окраин в течение всего года в среднем на 1° - 2°С.

Характер растительности Московского региона определяется его положением на слиянии зоны леса и лесостепи. Свыше 40% площади региона занимают леса. Они сохранились преимущественно на западе и востоке области. Коренных лесов мало; они замещены мелколиственно-хвойными и мелколиственными. На территории Московского региона встречаются как аборигенные виды деревьев и кустарников (липа сердцелистная, сосна обыкновенная, дуб черешчатый, различные виды берез, кленов, ив и др.), так и многочисленные интродуценты. Видовое разнообразие древесно-кустарниковых пород, разнообразие лесных массивов, встречающихся в Московском регионе, все это, способствует развитию довольно богатой эпифитной и эпигейной лишенобиоты.

Разрозненные сведения о лишайниках Московского региона впервые были обобщены А.А. Еленкиным в начале 20-го века [1]. Спустя почти 50 лет изучение лишенобиоты этой территории было продолжено Н.С. Голубковой [2], и в результате её исследований список лишайников увеличился в несколько раз. В последующие годы много сборов лишайников в различных районах области сделал Л.Г. Бязров [3, 4], который и обобщил все имеющиеся к началу 21 века данные, включая данные по находкам лишайников на территории г. Москвы.

Талломы макролишайников образованы сумчатыми грибами (Ascomycota) и только один вид – *Multiclavula mucida* (Pers.) R.H. Petersen, базидиальными грибами (Basidiomycota). В настоящее время на территории Московского региона, с учетом современных таксономических преобразований, зарегистрировано 166 видов макролишайников, относящихся к классу *Lecanoromycetes* (таблица). В результате значительных таксономических изменений, происходивших в течение столетия, некоторые виды лишайников сейчас имеют другие видовые названия, чем те, которые приведены в работах А.А. Еленкина [1], Н.С. Голубковой [2], Л.Г. Бязрова [3, 4] и некоторых других исследователей.

Расположение большей части Московской области в лесной зоне повлияло на видовой состав лишайников. Здесь распространены виды широко распространенные в лесах. Наибольшее число видов макролишайников встречается на форофитах и на почве, значительно меньше на каменистом субстрате. Среди эпифитов преобладают виды сем. *Parmeliaceae*, среди эпигейных лишайников – виды сем. *Cladoniaceae*. Четкая приуроченность к определенному типу субстрата, как правило, отсутствует; большая часть видов способна развиваться на разнообразных субстратах.

Эпигейные лишайники встречаются на различных почвах, включая торфянистые и песчаные, но избегают черноземы. Они распространены в лесах, растут по обочинам дорог, на обнаженной почве, встречаются также на древесине валежа, на замшелых субстратах, на основаниях стволов деревьев. На почве в городской среде видовое разнообразие и обилие их невелико. Приуроченность эпифитных лишайников к субстрату зависит от pH корки форофита. При сдвиге pH в сторону нейтральности или кислотности под влиянием загряз-

нения видовой состав лишайников типичный для вида форофита меняется.

Табл. 1. Систематическое положение таксонов класса *Lecanoromycetes* макролишайников Московского региона

Подкласс	Порядок	Семейство	Род	Число видов
Lecanoromycetidae	Caliciales	Physciaceae	Anaptychia	1
			Heterodermia	2
			Phaeophyscia	7
			Physcia	11
			Physciella	1
			Physconia	5
	Lecanorales	Cladoniaceae	Cladonia	51
		Parmeliaceae	Bryoria	8
			Cetraria	3
			Cetrariella	2
			Evernia	3
			Flavoparmelia	1
			Hypogymnia	4
			Imschaugia	1
			Melanelixia	3
			Melanohalea	5
			Menegazzia	1
			Nephromopsis	1
			Parmelia	2
			Parmelina	2
			Parmeliopsis	2
			Platismatia	1
			Pleurosticta	1
			Pseudevernia	1
			Tuckermannopsis	1
			Usnea	7
			Vulpicida	2
			Xanthoparmelia	1
		Ramalinaceae	Ramalina	9
		Stereocaulaceae	Stereocaulon	2
	Peltigerales	Collemataceae	Collema	1
			Leptogium	1
		Lobariaceae	Lobaria	1
		Peltigeraceae	Peltigera	13
		Teloschistaceae	Oxneria	1
			Polyocauliona	2
			Xanthoria	2
Ostropomycetidae	Baeomycetales	Baeomycetaceae	Baeomyces	1
			Dibaeis	1
	Candelariales	Candelariaceae	Candelaria	2

Часть видов, указанных для Московского региона А.А. Еленкиным, в последующие годы на территории не зарегистрированы. Виды лишайников, которые не находили на территории региона в течение более 100 лет, считаются исчезнувшими. Это *Alectoria sarmentosa* (Ach.) Ach., *Cetraria aculeata* (Schreb.) Fr. (*Cornicularia aculeata* (Schreb.) Schreb.), *Leptogium lichenoides* (L.) Zahlbr., *Scytinium subtile* (Schr.) Otálora, P.M. Jørg et Wedin (*Leptogium subtile* (Schr.) Torss.), *Xanthoparmelia conspersa* (Ach.) Hale (*Parmelia conspersa* Ehrh. ex Ach.) Ach. К вероятно исчезнувшим относятся: *Cladonia macrophylla* (Schaer.) Stenh. (*C. alpicola* (Flot.) Vain.), *Enchylium limosum*

(Ach.) Otálora, P.M. Jørg. et Wedin (*Collema limosum* (Ach.) Ach.), *Ramalina thrausta* Ach., *Usnea barbata* (L.) F.H. Wigg., *Usnea florida* (L.) F.H. Wigg. Эти лишайники не находили на территории региона в течение 70 лет: местообитания, в которых они были зарегистрированы ранее, уничтожены или не подтверждено наличие этих видов в ранее известных сохранившихся местообитаниях.

В Красную книгу Московской области (2018) включено 40 видов макролишайников, из них 15 видов листоватых и 25 видов кустистых. Преобладают эпифитные лишайники (75%). В Красную книгу города Москвы (2022) включено 35 видов лишайников, из которых 32 вида – макролишайники. Количество эпифитов (18) незначительно превышает количество эпигейных (14) лишайников.

В Московском регионе видовой состав макролишайников выявлен хорошо. Находки макролишайников, которые были сделаны в последние годы, единичные. При дальнейшем обследовании лишайнобиоты Московского региона увеличение видового разнообразия макролишайников будет незначительным.

Список литературы

1. Еленкин А.А. Флора лишайников Средней России. Ч. 1, 2, 3-4 // Издание естественно-исторического музея графини Е.П. Шереметьевой в с. Михайловском, Московской губы – Юрьев. 1906. Ч. 1. 184 с., 1907. Ч. 2. 360 с., 1911. Ч. 3-4. 684 с.
2. Голубкова Н.С. Флора лишайников Московской области. Диссерт. канд. биол. наук. Л.: БИН АН СССР. 1962. – 775 с.
3. Бязров Л.Г. Видовой состав лишайнобиоты Московской области. Версия 2. 2009 - http://www.sevin.ru/laboratories/biazrov_msk.html
4. Бязров Л.Г. Лишайники Москвы: современная динамика. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009 б. - 146 с.

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ СИМБИОНТОВ В ТАЛЛОМЕ ЛИШАЙНИКА *XANTHORIA PARIETINA* (L.) BELTR.

Власова Т.А., Агеева И.В.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Свойства лишайникового симбиоза позволяют лишайникам выживать в крайне неблагоприятных условиях среды. При этом велико значение обоих компонентов, как грибного, микобионта, так и водорослевого компонента, фикобионта.

Из лишайникового состояния, в котором симбионты находятся в лишайнике, в эксперименте они могут быть переведены в состояние частичной делихенизации вследствие помещения таллома в определённых условиях, а также в состояние полной делихенизации, будучи отдельно выделены в чистые культуры, причём можно наблюдать и обратимость состояния делихенизации в случае обратного опытного объединения симбионтов.

Экспорт веществ из изолированной водоросли быстро прекращается, что указывает на активное влияние микобионта на фикобионт. Подтверждается, в частности, быстрым прекращением экспорта веществ из водоросли при её изоляции, а у изолированного гриба, в свою очередь, изменяется синтез ряда специфических веществ.

При изучении лишайникового симбиоза большой интерес представляет выяснение значения каждого симбионта в их сосуществовании и взаимного влияния фикобионта и микобионта. В целом изучение взаимного влияния симбионтов лишайника, которое выяснено ещё не полностью, продолжается и представляет большой интерес. Это имеет и определённое теоретическое значение, и может учитываться при исследовании повреждений лишайников в неблагоприятных условиях.

Ранее нами было проведено сравнительное изучение распределения и характера контактов фикобионта и микобионта в талломах листоватых и кустистых лишайников *Peltigera aphthosa*, *Xanthoria parietina*, *Parmelia physodes*, *Cetraria islandica*, *Physcia aipolia* и *Evernia prunastri*.

Все эти лишайники являются гетеромерными и в качестве фикобионтов содержат одноклеточные зелёные водоросли. Изучение их гонидиальных слоёв на срезах лишайниковых талломов, на которых наряду с гифами гриба обнаруживались и клетки водорослей, выявило значительную вариабельность распределения клеток водорослей в талломах лишайников разных видов. Варьировали как ширина, так и степень компактности водорослевого слоя.

В данной работе более детально рассматривали ультраструктуру гонидиального слоя лишайника *Xanthoria parietina*, причём сравнивали его ультраструктуру в различные сезоны года, а также сравнивали участки таллома и апотеции.

Талломы лишайника *Xanthoria parietina* собирали на стволах яблонь в Ботаническом саду МГУ. Для электронно-микроскопического изучения изготавливали поперечные срезы талломов и напыляли их тяжёлыми металлами. Подготовленный материал просматривали в электронном микроскопе CamScan.

Изучение подтвердило результаты предыдущего и показало, что клетки фикобионта *Trebouxia* в гонидиальном слое лишайника были распределены довольно неравномерно. Преобладали группы водорослей, возможно, образованные в результате деления водорослей. Обнаружены были весьма близкие контакты клеток фикобионта с гифами микобионта. Иногда клетки фикобионта были деформированы гифами вплоть до явного образования вмятин. При этом взаимодействие симбионтов *Xanthoria parietina* не ограничивалось поверхностными контактами, а в ряде случаев гифы гриба внедрялись в водорослевые клетки. В некоторых случаях гиф, непосредственно контактирующих с клетками фикобионта, не было обнаружено, однако видны были отверстия довольно правильной округлой формы, по всей вероятности, причинённые проникновением мицелия. Однако, к сожалению, по внешнему виду клеток

фикобионта не удаётся определить их физиологическое состояние, поэтому данным методом пока не удалось выяснить зависимость вероятности внедрения микобионта в клетки фикобионта.

Явных принципиальных визуальных различий в характере распределения фикобионта *Trebouxia* в вегетативных участках таллома и апотециях на данном этапе изучение не выявило.

Видимые изменения состояния фикобионта *Trebouxia* были обнаружены в талломах лишайника, собранных в зимний период. Клетки водоросли были

заметно деформированы, сильно вмяты, что указывало на явное изменение их состояния. Группы водорослей были более разрознены, чем наблюдаемые обычно. Причина подобных изменений остаётся невыясненной, возможно, это случайные отклонения, так как эти лишайники вполне холодоустойчивы.

Изучение деталей взаимоотношений симбионтов данного лишайника будет продолжено.

ГЕОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИХЕНОБИОТЫ ХВОЙНЫХ ЛЕСОВ НА ПРИМЕРЕ ГЕОБОТАНИЧЕСКИХ ПОДЗОН БЕЛАРУСИ

Яцына А.П.
Белорусский государственный университет, Минск

Изучение современного географического распространения лишайников на определенных территориях представляет значительный интерес, так как позволяет показать закономерности формирования лишенобиоты: определить границы ареалов видов, установить редкие и находящиеся под угрозой исчезновения лишайники, выявить приуроченность видов к определенным субстратам, биотопам и т.д. Особенности ботанико-географического положения Беларуси (её размещение в переходной полосе от Евразийской хвойно-лесной (таежной) области к Европейской широколиственной) обуславливают преобладание в составе лишенобиоты республики комплекса бореальных и неморальных видов лишайников, составляющего её ядро. В зависимости от климатических, фитоценотических и антропогенных факторов лишенобиота лесов хвойной формации различных геоботанических подзон Беларуси представлена определенным набором видов. Поэтому, изучение влияния региональных факторов на зональное распределение лишайников в лесах хвойных лесов Беларуси актуально и заслуживает особого внимания. Как, показали наши исследования, количество видов лишайников и близкородственных грибов в хвойных лесах в целом, а также в сосновых и еловых фитоценозах в частности с севера на юг в республике уменьшается (таблица 1).

Табл. 1. Общая численность видов лишенобиоты хвойных лесов по геоботаническим подзонам Беларуси

Геоботанические подзоны Беларуси	Количество видов / % от общего числа видов	Количество видов в сосновых лесах / % от общего числа видов в сосновых лесах	Количество видов в еловых лесах / % от общего числа видов в еловых лесах
Дубово-темнохвойных лесов	315/87	220/83	242/76
Грабово-дубово-темнохвойных лесов	254/70	182/69	189/59
Широколиственно-сосновых лесов	187/51	122/46	128/40
Всего:	361	265	319

Наибольшее количество видов, как в целом в хвойных, так в сосновых и еловых лесах, отмечено в подзоне дубово-темнохвойных лесов. В первую очередь это связано с типологическим разнообразием изученных хвой-

ных сообществ и их составом, т.е. наличием различных пород деревьев и кустарников в лесных фитоценозах. В подзоне дубово-темнохвойных лесов представлены все известные типы леса сосновой и еловой формаций. Для подзоны дубово-темнохвойных лесов характерны максимальные площади произрастания сосняков багульниковых и сфагновых по сравнению в другими подзонами в республике. Лесопокрываемые площади еловых лесов с севера на юг уменьшаются, в подзоне широколиственно-сосновых лесов ельники представлены островными естественными насаждениями. В подзоне дубово-темнохвойных лесов ельники образуют лесные массивы; часто разные типы леса еловой формации чередуются в зависимости от орографических условий и формируют значительные лесопокрываемые площади. В еловых лесах подзон грабово-дубово-темнохвойных и широколиственно-сосновых лесов в древостое и подросте возрастает роль дуба и граба, с продвижением этих пород на юг их количество в растительных ярусах увеличивается, это, безусловно, приводит к увеличению числа эпифитных неморальных видов лишайников. В подзоне широколиственно-сосновых лесов лесопокрываемая площадь сосны чуть выше по сравнению с подзоной дубово-темнохвойных лесов, часто в подзоне широколиственно-сосновых лесов сосняки растут на песчаных почвах в виде лесных культур. В древостое и подросте еловых лесов подзоны дубово-темнохвойных лесов часто встречается осина, с продвижением еловых лесов с севера на юг, мелколистная порода заменяется дубом и грабом, а в южной части подзоны грабово-дубово-темнохвойных лесов и широколиственно-сосновых лесов дуб и граб участвуют в формировании дубрав и грабняков, а ель и осина входят в состав древостоя или подроста лиственных сообществ. В хвойных лесах для всех геоботанических областей республики отмечено 81 общий вид лишайников: *Alyxoria varia*, *Anaptychia ciliaris*, *Arthonia radiata*, *A. spadicea*, *Athallia cerinella*, *B. rufus*, *Buellia griseovirens*, *Caloplaca cerina*, *Cetraria islandica* и т.д. Для хвойных лесов, для подзоны дубово-темнохвойных лесов, характерна наибольшая видоспецифичность лишенобиоты по сравнению с другими подзонами в Беларуси. Только в данной подзоне отмечено 79 видов лишайников и близкородственных грибов (21,8% общего числа видов). Проследив приуроченность видов к лесным сообществам и породам деревьев, можно увидеть следующую закономерность; ряд таксонов отмечен на верховых болотах (*Absconditella delutula*, *A. lignicola*, *A. sphagnorum*), на коре осины (*Bacidia subincompta*,

Biatora efflorescens, *B. epixanthoides*, *Gyalecta truncigena*, *G. ulmi*, *Heterodermia speciosa*) и в местах с избыточным увлажнением (*Cladonia portentosa*, *C. stygia*). Наибольший интерес представляют эпилитные виды лишайников: *Aspicilia cinerea*, *Candelariella coralliza*, *Rhizocarpon distinctum*, *R. grande*, *Trapelia coarctata*, *Xantoparmelia loxodes*, *X. verruculifera* известные только в подзоне дубово-темнохвойных лесов.

Подзоны грабово-дубово-темнохвойных и широколиственно-сосновых лесов отличаются от северной подзоны меньшей видоспецифичностью лишайников, только в подзоне грабово-дубово-темнохвойных лесов встречаются следующие виды: *Anisomeridium polypori*, *Artonia exilis*, *A. vinosa*, *Biatora carneoalbida*, *Chaenothecopsis rubescens*, *Collema flaccidum*, *Cresponea chloroconia*, *Fellhanera myrtillicola*, *Gyalideopsis anastomosans*, *Gyalolechia flavorubescens*, *Lecanactis abietina*, *Lecanora conizaeoides*, *Lecidea helvola*, *Lepraria rigidula*, *Lopadium disciforme*, *Parmelia ernstiae*, *Physconia perisidiosa*, *Sclerophora amabilis*, *S. coniothoea*, *Scytinium lichenoides* и *Xantoparmelia pulla*. Большинство из вышеперечисленных видов в хвойных лесах в центральной подзоне отмечены на коре лиственных пород деревьев: дуба, липы, граба, режы – на других субстратах. Наименьшей видоспецифичностью обладает лишайнобиота хвойных лесов подзоны широколиственно-сосновых лесов: в ней отмечено всего 9 видов (2,4% от общего числа видов): *Cladonia brevis*, *Lepraria ecorticata*, *Micarea microareolata*, *M. nitschkeana*, *Parmotrema stippeum*, *Punctelia jeckeri*, *P. subrudecta*, *Ramalina baltica* и *Scytinium subtile* – которые не выявлены в других подзонах. Биологическое разнообразие лишайников, а тем более близкородственных – лишайнофильных и нелихенизированных грибов геоботанических подзон Беларуси изучено крайне неравномерно. Соотношение видов, отмеченных в хвойных лесах и всех фитоценозах (включая хвойные леса) подзон Беларуси представлены в таблице 2.

Табл. 2. Вклад лишайнобиоты хвойных лесов в общее разнообразие лишайников и близкородственных грибов по геоботаническому подзонам республики

	Подзона дубово-темнохвойных лесов	Подзона грабово-дубово-темнохвойных лесов	Подзона широколиственно-сосновых лесов
Число видов лишайников и близкородственных грибов хвойных лесов	315	254	187
Число видов лишайников и близкородственных грибов в подзоне	437	375	309
Доля видов лишайников и близкородственных грибов хвойных лесов лишайнобиоты подзоны в целом, %	72	68	60

Доля видов лишайников и близкородственных грибов хвойных лесов в составе лишайнобиот геоботанических подзон варьирует в значительных пределах. Так, для подзон число общих видов для хвойных лесов и в фитоценозах изменяется в пределах от 72% до 60%. Это явление легко объяснить увеличением с севера на юг естественной площади лесных фитоценозов, которые представлены широколиственными и мелколиственными древесными породами. Общим для сосновых и еловых лесов являются 201 вид (71% общего числа известных видов хвойных лесов) лишайников и близкородственных грибов из 361 вида известных в хвойных лесах Беларуси. Наибольшее количество общих видов для еловых и сосновых лесов по мере убывания содержат следующие роды: *Cladonia*, *Peltigera*, *Micarea*, *Chaenotheca*, *Usnea*, *Ramalina*, *Lecanora*, *Lepraria* и *Calicium*.

Коэффициент сходства (Csc) лишайнобиоты сосновых лесов 3-х подзон колеблется от 72% до 61%. Сходство лишайнобиоты сосновых лесов в северной/центральной/южной подзонах составляет 72%/70%/61% видового состава лишайников и близкородственных грибов. Разница сходства видов в сосновых лесах между северной и центральной подзонами составляет 2%, между центральной и южной подзонами – 9%, между северной и южной – 11%. Незначительное различие связано с довольно равномерным распространением сосновых лесов по подзонам республики. Число общих видов для всех 3-х подзон – 102 (38,7% общего числа видов сосновых лесов). Сюда относятся широко распространённые лишайники в республике: *Anaptychia ciliaris*, *Cetraria aculeata*, *C. ericetorum*, *C. islandica*, *C. sepincola*, *Coenogonium pineti*, *Evernia mesomorpha*, *E. prunastri*, *Graphis scripta* и др. Такую низкую видоспецифичность – 38,7%, можно объяснить однородностью и типологическим составом и структурой сосновых лесов в разных геоботанических подзонах республики.

Подобный характер распределение видов по подзонам наблюдается в лишайнобиоте еловых лесов республики. Коэффициент сходства (Csc) лишайнобиоты еловых лесов 3-х подзон колеблется от 67% до 56%. Сходство лишайнобиоты еловых лесов в северной/центральной/южной подзонах составляет 67%/63%/56% видового состава лишайников и близкородственных грибов. Разница коэффициента сходства (Csc) видов в еловых лесах между северной и центральной подзонами составляет 4%, между центральной и южной подзонами – 7%, между северной и южной – 11%. Количество общих видов для 3-х подзон – 137 (46% общего числа видов – 298). К общим видам относятся широко распространённые в Беларуси лишайники в республике: *Acrocordia gemmata*, *Alyxoria varia*, *Amandinea punctata*, *Arthonia arthonioides*, *A. radiata*, *Arthothelium ruanum*, *Athallia pyracea*, *Bacidia polychroa*, *B. rubella*, *Bacidina arnoldiana*, *Buellia griseovirens* и др.

Глава 6

Взаимоотношения грибов, бактерий, животных и растений. Микориза

10.14427/cmr.2024.x.06

AKANTHOMYCES CF. ACULEATUS – ПРОДУЦЕНТ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ, АКТИВНЫХ В ОТНОШЕНИИ ФИБРИЛЛЯРНЫХ И ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ

Басалаева Д. Л.^{1,3}, Богомолова А. А.², Коваль А. В.³, Осмоловский А. А.^{1,3}¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова» Москва²Утрехтский университет, г. Утрехт, Нидерланды³Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики» (НИУ ВШЭ), г. Москва

Грибы рода *Akanthomyces* относятся к эколого-трофической группе энтомопатогенных грибов. Эти грибы являются патогенными для насекомых и могут встречаться в различных природных средах обитания. Они обладают уникальной способностью проникать в тела своих хозяев, прикрепляясь к их хитиновому экзоскелету и белковым структурам [1].

Существуют различные способы заражения, наиболее распространенным из которых является разрушение белков на поверхности насекомого с последующим проникновением в организм. Этот процесс позволяет грибам размножаться и вызывать заболевание у хозяина. *Akanthomyces aculeatus* - это анаморфная форма гриба, который размножается бесполом путем, производя споры, идентичные родительскому организму. Точная телеоморфная форма этого гриба до сих пор не идентифицирована. Энтомопатогенные грибы играют важную роль в поддержании экологического баланса, являясь естественными регуляторами популяций насекомых и других членистоногих. Некоторые виды используются в сельском хозяйстве в качестве органических инсектицидов и обладают потенциалом для фармацевтического применения благодаря своей биологической активности [2, 3].

Ввиду особенностей физиологии энтомопатогенных микромицетов и постоянного контакта с насекомыми-хозяевами, на покровах которых встречаются разнообразные белковые молекулы, а также благодаря механизмам проникновения в тела насекомых, гриб *Akanthomyces aculeatus* может стать потенциальным продуцентом различных протеолитических ферментов [4]. В связи с этим целью данной работы было определение способности штамма *Akanthomyces aculeatus* к продукции протеолитических ферментов, активных в отношении фибриллярных и глобулярных белков.

В работе был использован штамм энтомопатогенного микромицета *Akanthomyces cf. aculeatus*, полученный из коллекции кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова.

Для достижения поставленной цели был проведен первичный скрининг протеолитической активности с использованием плотных питательных сред и глубинное культивирование с определением оптимального состава питательной среды для максимального выхода протеолитических ферментов.

Для определения протеолитической активности исследуемый штамм культивировали на агаризованных питательных средах, содержащих источники глобулярных и фибриллярных белков (казеинат натрия и гемоглобин в качестве глобулярных белков, коллаген, кератин, желатин, фибрин и эластин в качестве фибриллярных белков). Посев проводили уколом в поверхность чашки Петри. Культуру инкубировали 4 суток при температуре 28°C. Для учета гидролитической активности чашки окрашивали раствором Кумасси G-250 в хлорной кислоте. Активность выражали в энзиматических индексах как отношение зоны гидролиза субстрата к диаметру колонии [5].

Глубинное культивирование осуществляли по стандартной методике. Использовали 7-суточную культуру, выросшую на скошенном сусле-агаре. На первом этапе производили смыв спор в посевную среду, состоящую из сусла, глюкозы и пептона. В данной среде культуру инкубировали 48 часов в шейкер-инкубаторе ES-20/80 («BioSan», Латвия) для прорастания проб и накопления активной биомассы. Далее 3% биомассы переносили в ферментационные среды. Культуру инкубировали в ферментационных средах при постоянном перемешивании со скоростью 200 об./мин при температуре 28°C в течение 4 суток в шейкер-инкубаторе ES-20/80 («BioSan», Латвия). Затем культуральную жидкость отделяли фильтрованием через фильтровальную бумагу («ФС», Россия) с помощью колбы Бунзена и воронки Бюхнера, и оценивали уровень протеолитической активности с помощью различных субстратов.

В качестве субстратов использовали предокрашенные субстраты азоказеин («Sigma-Aldrich», Germany) (для оценки общей протеолитической активности), и азоколл (EMD Millipore Corp., USA) (в качестве показателя коллагеназной активности), нативную суспензию бычьего фибриногена (MP Biomedics, New Zealand) (для определения уровня фибриногенолитической активности), а также хромогенные пептидные субстраты (ХПС) S-2251 (H-D-Val-Leu-Lys-pNA) («Sigma-Aldrich», Germany) – для определения плазминоподобной активности и S-2444 (pGlu-Gly-Arg-pNA) («Sigma-Aldrich», Germany) – для определения урокиназной активности. Протеазы, обладающие плазминоподобной и урокиназной активностями, используются в виде лекарственных средств, эффективных в отношении тромбозов, поскольку являются аналогами активаторов работы си-

стемы гемостаза человека. Реакции проводили по стандартной схеме [6].

В результате определения протеолитической активности исследуемого штамма были получены значения энзиматических индексов в отношении глобулярных и фибриллярных белков. Штамм *A. cf. aculeatus* проявил способность к гидролизу коллагена, казеината натрия, фибрина и эластина ($EI_{\text{коллаген}}=2,27$, $EI_{\text{казеинатNa}}=1,16$, $EI_{\text{фибрин}}=1,17$, $EI_{\text{эластин}}=1,09$) и оказался неспособным гидролизовать кератин, желатин и гемоглобин. Таким образом, в результате первичного скрининга было выяснено, что исследуемый штамм не обладает какой-либо специфичностью в отношении глобулярных или фибриллярных белков, так как у него была замечена способность к гидролизу представителей обеих групп.

Глубинное культивирование в различных ферментационных средах показало, что выбор источника азота является ключевым аспектом для синтеза ферментов у микромицетов. Так, ФС1 и ФС2 оказались подходящими для продукции фибриногенолитических ферментов, тогда как среды ФС3 - ФС8 показали выход других ферментов, обладающих общей протеолитической, коллагеназной, плазминоподобной или урокиназной активностями. Наибольший уровень общей протеолитической активности исследуемого штамма был отмечен при культивировании в ФС3 и ФС8. Плазминоподобная и урокиназная активность исследуемого штамма в значимом количестве наблюдалась при культивировании в ФС6 и ФС8, что может стать основой для получения препаратов тромболитических агентов. Коллагеназная активность при культивировании в глубинных условиях оказалась значительно ниже, наибольший уровень показал гриб на среде ФС7 (табл.).

Табл. 1. результаты активностей культуральной жидкости исследуемого штамма в отношении белковых субстратов после глубинного культивирования

	Азоказеин, усл.ед./мл	Азоколл, усл.ед./мл	Фибриноген, мкмоль Тир/мл/мин	S-2251, мкмоль pNA × 10 ⁻³ /мл/мин	S-2444, мкмоль pNA × 10 ⁻³ /мл/мин
ФС1 (KNO ₃ + ГРМ)	0,223	0,023	145,25	0,174	5,336
ФС2 (пептон + ГРМ)	0,085	0,015	139,35	0,928	0,232
ФС3 (гидролизат кератина)	1,772	0,096	293,44	2,668	3,538
ФС4 (коллаген)	1,583	0,240	303,54	14,094	15,138
ФС5 (перьевая мука)	1,615	0,216	206,71	0	5,278
ФС6 (фиброин)	1,063	0,150	127,14	18,386	17,342
ФС7 (шерсть)	1,388	0,279	164,61	2,088	2,378
ФС8 (эластин)	1,768	0,203	294,28	15,834	22,678

В результате можно сделать вывод о том, что энтомопатогенные грибы *Akanthomyces cf. aculeatus* способны к гидролизу глобулярных и фибриллярных белков в процессе поверхностного культивирования, в особенности коллагена. Глубинное культивирование данного мицелиального гриба показало значительный уровень продукции протеолитических ферментов, эффективных в отношении фибриногена и азоказеина, при добавлении в питательную среду таких соединений, как гидролизат кератина, коллаген и эластин. Данные ферменты можно использовать в различных отраслях медицины, биотехнологии, пищевой промышленности, а также в сельском хозяйстве для регуляции численности популяции насекомых – вредителей культур.

Список использованных источников:

1. 1. Goettel, M. S. Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations / M. S. Goettel, J. Eilenberg, T. Glare // Comprehensive molecular insect science. : Elsevier, 2005. – P. 361–405.

2. 2. Евлахова, А. А. Энтомопатогенные грибы. Систематика, биология, практическое значение / А. А. Евлахова. - Л.: Наука, 1974. 260с.

3. 3. Ferreira, J. M. Entomopathogenic fungi hydrolytic enzymes: a new approach to biocontrol? / J. M. Ferreira, F. E. de Freitas Soares //Journal of Natural Pesticide Research. – 2023. – С. 1000- 1020.

4. 4. Semenova, T. A. Extracellular peptidases of insect-associated fungi and their possible use in biological control programs and as pathogenicity markers / T. A. Semenova, Y. E. Dunaevsky, G. A. Beljakova, M. A. Belozersky // Fungal Biol. – 2020. – V. 124, N. 1. – P. 65–72.

5. 5. Осмоловский, А. А. Секреция протеиназ с фибринолитической активностью микромицетами рода *Aspergillus* / А. А. Осмоловский, Е. С. Звонарева, В. Г. Крейер, Н. А. Баранова, Н. С. Егоров // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. — 2018. — Т. 73, № 1. — С. 47–51.

6. 6. Osmolovskiy, A. A. Combined microbiological approach to screening of producers of proteases with hemostasis system proteins activity among micromycetes / A. A. Osmolovskiy, A. A. Lukianova, E. S. Zvonareva, V. G. Kreyer, N. A. Baranova, N. S. Egorov // Biotechnol Rep (Amst). 2018. – Т. 19. – А. e00265.

НЕОБЫЧНАЯ НАХОДКА НА КОЛЬСКОМ ПОЛУОСТРОВЕ: ГРИБ *CORDYCEPS MILITARIS* КАК ПАРАЗИТ ТЛЕЙ

Борисов Б.А.¹, Александрова А.В.², Антонов Е.А.²

¹АгроБиоТехнология, Москва

²Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова

Энтомопаразитический гриб *Cordyceps militaris* (L.: Fr.) Fr. (Ascomycota: Нуротеалес: Cordycipitaceae), распространённый во многих регионах мира, трофически связан, главным образом, с куколками и гусеницами (реже) «ночных» чешуекрылых из семейств Arctiidae, Enebidae, Geometridae, Lasiocampidae, Noctuidae, Notodontidae, Sphingidae, Thyatiridae и др. (Lepidoptera: Macroheterocera); но известны также случаи поражения им личинок пилильщиков (Hymenoptera: Cimbicidae) и комаров-долгоножек (Diptera: Tipulidae) и имаго жесткокрылых (Coleoptera) [1, 2].

В Европейской части России гриб встречается во многих областях Центрального, Приволжского, Северо-Западного федеральных округов, а наиболее северные его находки прежде были, вероятно, в республике Карелия [Борисов, неопубликованные данные]:

Кондопожский район, окрестности пос. Лижма, лесной массив вблизи озера Кедрозеро, N 62°24'50", E 34°24'41", середина июля 2008 г. 1 экземпляр на куколке бражника на трухлявом пне;

Пряжинский р-н, лес на берегу оз. Сямозеро, N 61°53'35", E 33°01'39", конец августа 2010 г. массовая гибель куколок неидентифицированных чешуекрылых (Notodontidae?) в лесной подстилке, очаг локальной эпизоотии на площади ≈0,25 га.

В ходе исследований на территории Комплексного мониторингового полигона Кольского научного центра РАН (Мурманская обл., в 20 км от г. Апатиты; N 67°35'55", E 032°59'37") 26.08.2023 г. на заболоченной опушке леса около озера Имандра было обращено внимание на подозрительную пятнистость листьев у группы молодых кустиков карликовой берёзы *Betula nana* L. Причиной этого оказалось массовое развитие тли *Hormaphis betulae* (Mordvilko) (Hemiptera: Aphididae: Hormaphidinae), внешне схожей больше со щитовками. На большинстве листьев (с площадью не более 1,5 см²) численность фитофага на нижней стороне составляла 2-4 экземпляра, а на отдельных - до 8-9. При этом помимо живых тлей жёлто-оранжевого цвета было отмечено почти столько же (≈45 %) бурых и чёрных мёртвых особей (Фото 1). Но ни на одной из них не было вылетных отверстий - характерных признаков поражения перепончатокрылыми наездниками-паразитоидами (например, в Ленинградской области на этом виде тли встречается *Calaphidius elegans* Maskauer из сем. Aphididae - [3]). Поскольку меланизация кутикулы может быть признаком внедрения в тело насекомых и развития энтомопаразитических грибов [4], собранных мёртвых тлей позже в лабораторных условиях промыли в стерильном растворе, содержащем 0,1 % эмульгатора Твин-80 и 0,04 % антибиотика гентамицина сульфата, подсушили на фильтровальной бумаге и разложили во влажные камеры (на предметные стёкла поверх мокрой ваты в чашках Петри), которые на 10 суток поместили в термостат с T=24 °C.

При дальнейшем микроскопическом анализе этих материалов было выявлено обрастание большинства трупов тлей (54 экземпляра из 60 заложенных 90 %) септированным мицелием с "*Cephalosporium*" / *Verticillium* / *Lecanicillium*-подобными конидиогенными структурами (Фото 2) [5, 6, 7], а также присутствие сапротрофных микромицетов из родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium* и др., которые обычны на выделяемой тлями медвяной росе. Затем из трёх наиболее чистых особей тли, слабо контаминированных этими сапротрофами, были сделаны высевы в чашки Петри на агаризованную полусинтетическую среду (состав, г/л: сахара 35, пептон мясной сухой ферментативный 4, дрожжевой экстракт сухой 6, K₂HPO₄ 1,5, MgSO₄ 7H₂O 0,7, NaCl 5, ZnSO₄ 0,05, Твин-80 0,5, агар-агар 20, гентамицина сульфат 0,4), на которой через две недели выросли пушистые жёлто-оранжевые колонии.

В результате морфолого-культуральных исследований все три изолята были идентифицированы как анаморфа *C. militaris* [5, 6, 7]. Это оказалось неожиданным, поскольку: 1) в качестве паразита тлей и вообще насекомых гемиптероидного комплекса (Paraneoptera) данный вид никогда и нигде в мире не находили; 2) прежде в природе на поражённых хозяевах самостоятельное анаморфное спороношение без присутствия стром (телеоморфных структур) не отмечалось [1], в отличие от таких филогенетически довольно родственных видов, как, например, *C. amoenerosea*, *C. coleopterorum*, *C. fumosorosea*, у которых, напротив, телеоморфы вообще не известны.

Для подтверждения диагноза один из «тлёвых» штаммов НВ-MuR(Im)23-1 был изучен молекулярно-генетическими методами в сравнении со штаммом *C. militaris* LSp-KvR23, выделенным из телеоморфы с куколки бабочки-бражника (Кировская обл., июль 2023 г.; образец гриба был найден и любезно предоставлен А. А. Широких, Вятский государственный университет).

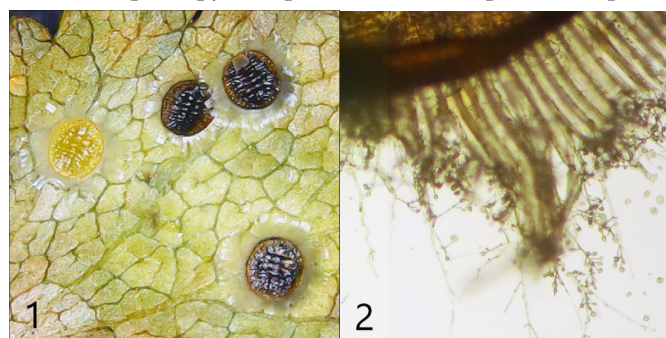
Выделение ДНК из мицелия изучаемых культур было проведено с использованием СТАВ-буфера по модифицированному для грибов протоколу. Очистку ДНК осуществляли хлороформным методом. Амплифицировали нуклеотидную последовательность фрагмента кодирующего белковую субъединицу 1 α TEF1 фактора элонгации трансляции (EF-1α), признанного наиболее универсальным и таксономически репрезентативным для большинства энтомопаразитических грибов семейства Cordycipitaceae. Использовали пару праймеров EF1 – EF2. Полимеразную цепную реакцию проводили в амплификаторе Bio-Rad T100 Thermal Cycler по стандартному протоколу. Полученные в результате амплификации ПЦР-продукты анализировали в 1 % геле методом электрофореза. Очистку ПЦР-продукта осуществляли с использованием магнитных частиц из набора CleanMag DNA PCR согласно инструкции. Секвенирование осуществлено в компании ЗАО «Евроген». Для обработки полученных данных использованы пакеты программ

MEGA и ClustalX, поиск сходных фрагментов проведен в программе BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>), встроенной в базу данных GenBank.

Полученные нуклеотидные последовательности частичного гена фактора элонгации имели среднюю длину фрагмента в 580 н.п. и высокое качество секвенирования. Результаты поиска сходных данных в GenBank по участку EF-1a показали значимое сходство обоих штаммов с референсными штаммами *C. militaris* (ARSEF 5050, ATCC 34164, NBRC 9787 и др.) >99%.

Таким образом, подтверждено, что в Заполярье была сделана находка именно этого вида, которая выглядит очень нетривиальной по двум причинам: 1) поражения (причём, массового – порядка 40 %) тли *H. betulae*, являющейся, безусловно, очень «странным» хозяином; 2) образования на трупах тлей самостоятельного конидиального (анаморфного) спороношения.

В дальнейшем представляется важным оценить вирулентность выделенных трёх изолятов в сравнении с изолятами из куколок *Lepidoptera* (типичных насекомых-хозяев) в отношении разных видов тлей и, возможно, некоторых других представителей отряда Hemiptera.



Список литературы

1. Коваль Э.З. Клавизиципальные грибы СССР. Киев: Наукова Думка, 1984. 287 с.
2. Kryukov V.Yu., Yaroslavlseva O.N., Lednev G.R., Borisov B.A. Local epizootics caused by teleomorphic cordycipitoid fungi (Ascomycota: Hypocreales) in populations of forest lepidopterans and sawflies of the summer-autumn complex in Siberia. Microbiology, 2011; 80 (2): 286–295.
3. Давидьян Е.М. Предварительные результаты изучения наездников-триоксин (Hymenoptera: Aphidiidae: Trioxinae) из коллекции Зоологического института РАН. Вестник защиты растений, 2016; 3 (89): 58–59.
4. Борисов Б.А., Серебров В.В., Новикова И.И., Бойкова И.В. Энтомопатогенные аскомицеты и дейтеромицеты. В кн.: Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты (под ред. В.В. Глупова). Москва: Круглый год. 2001: 352–427.
5. Gams W. Cephalosporium-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes). Stuttgart: G. Fischer Verlag. 1971. 262 s.
6. Balazy S. A review of entomopathogenic species of the genus Cephalosporium Corda (Mycota, Hyphomycetales). Bull. Soc. Amis Sci. Lett. Poznań, 1973; 14: 101–137.
7. Zare R., Gams W. A revision of Verticillium sect. Prostrata. IV. The genera Lecanicillium and Simplicillium gen. nov. Nova Hedwigia, 2001; 73 (1–2): 1–50.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПОЛЕВОЙ ОЦЕНКИ ИНСЕКТИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ИЗОЛЯТОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЭНТОМОПАРАЗИТИЧЕСКИХ ГРИБОВ НА ЛИЧИНОК И ИМАГО АДВЕНТИВНОГО КЛОПА ДУБОВОЙ КРУЖЕВНИЦЫ (*CORYTHUSNA ARCUATA*)

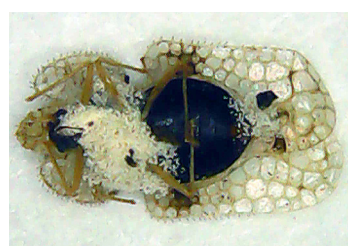
Михайлова Е.В.^{1,2}, Борисов Б.А.³, Шошина Е.И.¹, Журавлёва Е.Н.¹, Карпун Н.Н.^{1,2}

¹ ФИЦ Субтропический научный центр РАН, Сочи

² Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет

³ АгроБиоТехнология, Москва

Дубовая кружевница *Corythucha arcuata* (Say, 1832) – представитель североамериканской фауны клопов-кружевниц (Heteroptera: Tingidae). Спустя 16 лет после того,



как этот опасный сосущий вредитель был впервые зарегистрирован в Западной Европе (Италия, 1999 г.), где вскоре широко натурализовался во многих странах, а также в Турции, он был

обнаружен в России в г. Краснодаре; затем его вторичный ареал стал стремительно расширяться как в пределах края, так и в соседних регионах. В субтропической зоне Черноморского побережья Кавказа фитофаг был найден осенью 2017 г. в нескольких локальных очагах в г. Сочи [1], но уже вскоре настолько здесь распространился, что и в городских посадках, и в естественных лес-

ных насаждениях теперь практически нет деревьев дуба черешчатого *Quercus robur*, дуба Гартвиса *Q. hartwissiana* и некоторых других видов этого рода, не заселённых массово этим клопом [2]. Совершенно очевидно, что локализовать и ликвидировать этого карантинного вредителя, занявшего огромные массивы лесов на Кавказе, в том числе на особо охраняемых природных территориях (Сочинский национальный парк, Кавказский государственный природный биосферный заповедник) и в многочисленных водоохранных зонах, с использованием химических инсектицидов не представляется возможным, однако разработка эффективных мер борьбы с ним остаётся актуальной. Одним из возможных направлений сдерживания его численности может быть использование биопрепаратов на основе энтомопаразитических грибов (далее – ЭПГ) [3].

В первой декаде сентября 2023 г. авторами был поставлен полевой эксперимент с опрыскиванием за-

селённых дубовой кружевницей ветвей на группе деревьев *Q. robur*, растущих на территории опытного сада ФИЦ «Субтропический научный центр РАН» (г. Сочи, Хостинский р-н), суспензиями на основе спор (конидий) 8 изолятов разного происхождения ЭПГ *Beauveria bassiana* s.l. (4 изолята; вар. 1–4), *Metarhizium anisopliae* s.l. (3 изолята; вар. 5–7) и *Cordyceps* (= *Isaria*) *javanica* (1 изолят; вар. 8) из коллекции культур лаборатории микробиологических средств защиты растений ООО «АгроБиоТехнология» с целью выбора среди них наиболее вирулентных:

1. *Bb* Ort-KR(SL)17-GL - из остатков кобылки (Orthoptera: Acrididae), Сочи, март 2017 г.; с последующей реизоляцией после пассажа через имаго клопа-щитника *Graphosoma lineatum* (Heteroptera: Pentatomidae), Б.А. Борисов;

2. *Bb* HHi-S21-4 - из имаго карантинного опасного вредителя коричневого мраморного клопа *Halyomorpha halys* (Heteroptera: Pentatomidae), Сочи, сентябрь 2021 г., Б.А. Борисов;

3. *Bb* CAi-KrR(Ap)22 - из имаго *C. arcuata*, Краснодарский край, Апшеронский район, декабрь 2022 г., Б.А. Борисов;

4. *Bb* IxP-K19-GL - из имаго иксодового клеща *Ixodes persulcatus* (Ixodida: Ixodidae), респ. Карелия, июнь 2019 г.; с последующей реизоляцией после пассажа через клопа *G. lineatum*, Б.А. Борисов;

5. *Ma* BUi-PrR22 - из уссурийского палочника *Baculum ussurianum* (Phasmatodea: Bacillidae), Приморский край, август 2022 г., Б.А. Борисов;

6. *Ma* Ort-MR(Z)21-GL - из имаго тропической саранчи *Tropidacris collaris* (Orthoptera: Romaleidae) в лабораторной разводке, Москва, ноябрь 2021 г.; с последующей реизоляцией после пассажа через клопа *G. lineatum*, Б.А. Борисов;

7. *Ma* RII-MR21 - из личинки жука-усача *Rhagium inquisitor* (Coleoptera: Cerambycidae), Московская обл., апрель 2021 г., Б.А. Борисов;

8. *Cj* S-Vm-21-HH - из почвы, Вьетнам, 2021 г. (исходная культура выделена и любезно предоставлена А.В. Александровой, каф. микологии и альгологии МГУ им. М.В. Ломоносова); с последующей реизоляцией после пассажа через имаго клопа *H. halys*.

Изоляты ЭПГ для данного эксперимента культивировали твёрдофазным методом на зерновом субстрате 4 недели при +24...27°C, затем биомассу высушивали до влажности ≈10%, отделяли чистые конидии и смешивали их с инертным тонкодисперсным наполнителем для получения стандартизированных лабораторных образцов «биопрепаратов» с титром 6×10^9 в 1 г. Образцы для испытаний хранили в пластиковых герметичных банках при комнатной температуре в сухих условиях около 3 месяцев. Непосредственно перед проведением испытаний (07.09) навески образцов разводили для получения рабочих суспензий с титром 10^7 спор/мл по 1,67 г на 1 л воды с добавлением 0,6 мл эмульгатора «Сильвет Голд» (обеспечивает хорошую равномерную смачиваемость листьев) и 1,5 мл биогенного отечественного прилипателя «Биолипостим». Во избежание перекрёстного сноса суспензий во время опрыскивания при планировании эксперимента заранее отбирали модельные деревья на расстоянии не менее 5 м друг от друга.

Поскольку исходная численность дубовой кружевницы была невысокой (личинок в пределах 10–16 экземпляров на лист, имаго – 1–4), для достоверности оценок в одну повторность включали учёт в совокупности на 10 листьях; все варианты ставили в трёх повторностях.

Последующие учёты проводили на тех же листьях (они были заранее маркированы под номерами) через 4, 7, 10 и 14 суток после обработки. В период испытаний дождей не было, а среднесуточная температура воздуха колебалась в пределах +19...25 °C (максимальная 29 °C днём 07.09, минимальная 12 °C ночью 10–11.09).

В результате эксперимента было показано, что при итоговой гибели в среднем 9,7 % личинок и 22,2 % имаго кружевницы в контрольном варианте № 9 (опрыскивание листьев водным раствором, содержащим «Сильвет Голд» и «Биолипостим» в указанных выше концентрациях) в остальных вариантах смертность была заметно более высокая, но она сильно различалась в зависимости от используемых изолятов ЭПГ.

Среди изолятов *B. bassiana* s.l. CAi-KrR(Ap)22, выделенный в природе именно из дубовой кружевницы (вар. 3; см. фото поражённого клопа), оказался наиболее заслуживающим внимания: здесь уже через 7 суток средняя гибель личинок составила 41,5 %, имаго – 58,8 %, а через 14 суток, соответственно, 46,3 % и 82,4 %. Остальные три штамма оказались средне вирулентными.

Среди трёх испытанных изолятов *M. anisopliae* s.l. наиболее высокие результаты оказались при использовании культуры гриба из жука-усача RII-MR21 (вар. 7): через 2 недели итоговая смертность личинок составила 69,4 %, а имаго 91,2 %. Изолят из уссурийского палочника (вар. 5) на том же уровне действовал на личинок (смертность 73,4 %), но гибель имаго была от него меньше (78,9 %). Активность третьего штамма (из саранчи, вар. 6) оказалась хуже.

Высокие результаты в эксперименте показал также вьетнамский изолят гриба *C. javanica* Cj S-Vm-21-HH. Уже через 4 суток в этом варианте (№ 8) погибло 44,7 % личинок и 70,8 % имаго, а через 2 недели – 64,7 % и 91,7 %, соответственно. Однако, насколько данный изолят может быть перспективным с практической точки зрения для разработки на его основе биопрепарата, остаётся пока под вопросом, поскольку по важному критерию «технологичности» при искусственном культивировании (скорости развития, продуктивности образования инфекционных конидий и др.) он явно уступает лучшим изолятам *B. bassiana* s.l. и *M. anisopliae* s.l.

В целом данный эксперимент, поставленный, что важно, в реальных полевых условиях (а не контролируемых лабораторных) с использованием экономически приемлемой невысокой инфекционной нагрузки 10^7 конидий/мл показал, что идея использования ЭПГ как агентов биоконтроля дубовой кружевницы заслуживает того, чтобы продолжать исследования в этом направлении.

Исследования выполнены при финансовой поддержке ООО «АгроБиоТехнология» (подготовка образцов «биопрепаратов» на основе разных изолятов ЭПГ из коллекции культур компании), в рамках государственного задания ФИЦ СЦ РАН, тема FGRW-2022-0006 (фитосанитарный мониторинг декоративных насаждений) и гранта Российского научного фонда № 21-16-00050 (<https://rscf.ru/project/21-16-00050/>, полевой опыт, камеральная обработка данных).

Список литературы

1. Карпун Н.Н., Проценко В.Е., Борисов Б.А., Ширяева Н.В. Обнаружение дубовой кружевницы *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) в субтропической зоне Черноморского побережья Кавказа и прогноз изменения фитосанитарной

ситуации в регионе. Евразийский энтомолог. журн., 2018; 17 (2): 113-119.

2. Борисов Б.А., Карпун Н.Н., Бибин А.Р., Грабенко Е.А., Шириева Н.В., Лянгузов М.Е. Новые данные о трофических связях инвазионного клопа дубовой кружевницы *Corythucha arcuata* (Heteroptera: Tingidae) в Краснодарском крае и Республике Адыгея по результатам исследований в 2018 году. Субтропическое и декоративное садоводство, 2018; 67: 188-203.

3. Sönmez E., Demirbağ Z., Demir I. Pathogenicity of selected entomopathogenic fungal isolates against the oak lace bug, *Corythucha arcuata* Say. (Hemiptera: Tingidae), under controlled conditions. Turkish J. Agriculture and Forestry, 2016; 40 (5): 715-722.

К ВОПРОСУ ИССЛЕДОВАНИЯ АРБУСКУЛЯРНЫХ МИКОРИЗ *CROCUS ALATAVICUS* REGEL & SEMEN. НИЗКОГОРЬЯ ЗАИЛИЙСКОГО АЛАТАУ

Фалеев Д.Г.

Казахский национальный университет им. аль-Фараби», Алма-Ата

Микоризы арбускулярного типа широко распространены в природе, встречаются у более чем 90 % видов высших сосудистых растений. Арбускулярные микоризные грибы играют важную роль в жизнедеятельности и устойчивости как отдельных растений, так и растительных сообществ. Повышают ростовые параметры микоризных растений и их устойчивость к различным неблагоприятным условиям окружающей среды [1, 2].

Исследование микосимбиотрофизма луковичных эфемероидов имеет большое теоретическое и прикладное значение. Растения этой группы имеют нетипичный ритм развития: ранние сроки цветения и короткий период вегетации. Особому ритму развития, выработавшемуся у эфемероидов, способствует наличие у большинства из них подземных органов – луковец, клубнелуковиц или клубней, защищающих почки возобновления от неблагоприятных условий внешней среды: холода, жары, засухи. Луковичные эфемероиды являются хозяйственно ценными растениями – декоративными, кормовыми, лекарственными, медоносными [3, 4]. Микоризы арбускулярного типа у луковичных эфемероидов Казахстана изучены недостаточно.

Целью нашей работы явилось исследование арбускулярной микоризы эфемероида шафрана алатавского в районе пос. Кыргауылды (Алматинская область), низкогорья Заилийского Алатау (каз. Иле Алатау).

Шафран алатавский (*Crocus alatavicus* Regel & Semen.) – клубнелуковичное, травянистое, многолетнее растение семейства Ирисовые (*Iridaceae*). Растение высотой 10-20 см. Клубнелуковица округло-шаровидная, диаметром 1-2 см, одетая жестко-волосистыми бурыми чешуями. Листья (4-15 шт.) очень узкие (шириной около 1,5 мм), линейные, желобчатые (длиной 8-10 см при цветении и до 20 см в период плодоношения), появляются над поверхностью почвы во время цветения. Цветки одиночные, воронковидные, правильные. Листочки околоцветника до 4 см длиной, снежно-белые, снаружи по спинке серо-фиолетовые. В центре цветка изнутри – небольшое желтое пятно. Тычинок три, с длинными оранжевыми пыльниками, столбики завязи длинные, нитевидные, с клиновидными зубчатыми рыльцами. Цветёт с января-марта до апреля-мая, плодоносит в мае-июне [3, 4].

Встречается в Средней Азии; на территории Казахстана – Джунгарский Алатау, Северный и Западный Тянь-Шань – от Кетменьского хребта до Каратау и Каржантау (Алматинская, Таразская и Туркестанская (Южно-Казахстанская) области). Растёт на щебнистых и глинистых склонах, на горных лугах и в степи, в зарослях кустарников и на лесных полянах от предгорий и

до верхней границы лесного пояса (2700 м над уровнем моря). Декоративное, медоносное растение. Красивый ранневесенний первоцвет, нуждается в охране, занесен в Красную книгу Казахстана [3, 4].

В низкогорье Заилийского Алатау важный ранневесенний медонос. В годы с ранней весной цветет и активно посещается пчелами уже с середины февраля. Во время зимних оттепелей может цвести и посещаться пчелами в январе и даже в декабре, так было зимой 2023-2024 гг.

Нами, в конце марта 2024 г., изучены растения крокуса в разнотравно-кустарниковом растительном сообществе, на склоне юго-восточной экспозиции, в ущелье р. Кыргауылды (бассейн р. Аксай). Проективное покрытие – 40 %. Антропогенное воздействие – выпас скота. В ходе проведения исследований отбирались цветущие растения.

Отобранные экземпляры корневых систем, в семи повторностях, сразу фиксировались в 70 % спирте. Окрашивались трипановым синим, после мацерации в 10 % р-ре КОН. Затем выдерживались в 50 % р-ре глицерина для дифференциации окраски. Для микроскопирования готовили давленные препараты в глицерине. В каждом поле зрения определяли количество гриба-микоризообразователя в процентах [1, 2, 5].

Во всех исследованных образцах корневых систем *C. alatavicus* выявлены структуры характерные для арбускулярных микоризных грибов: неспитированный мицелий, везикулы, зернистая масса, арбускулы. Таким образом, частота встречаемости микоризной инфекции среди изученных экземпляров шафрана достигала 100 %.

Значительная часть микроскопированных полей зрения – 75,1 % содержали внутрикорневые структуры арбускулярных микориз, в то время как безмикоризными были только часть. Интенсивность микоризной инфекции (все структуры гриба-микоризообразователя) в среднем – 48,6 %, исследованные экземпляры можно отнести к среднемикотрофным. При этом, наибольшее количество структур гриба-микоризообразователя выявлено среди арбускул – в среднем 29,0 %. Везикулы встречались крайне редко – 0,1 %. Больше количество арбускул в образцах корневых систем исследованных растений шафрана алатавского указывает на высокую интенсивность двунаправленного потока питательных веществ между симбионтами: грибом-микоризообразователем и растением-хозяином, что, судя по всему, обусловлено благоприятными условиями обитания (высокая влажность, отсутствие перегрева) и напрямую взаимосвязано с цветением *C. alatavicus*.

Выявлено значительное количество точек внедрения микоризного гриба в корни растения хозяина (~ до 6-7 шт./1 см). Внедрение гриба-микоризообразователя происходило через ризодерму корня растения-хозяина. Для изученных корней первичного строения наличие корневых волосков не характерно. Малое количество корневых волосков, возможно напрямую связано с высокими показателями микосимбиотрофизма исследованных растений (по теории Бэйлиса – большое количество корневых волосков способствует повышению интенсивности всасывания питательных веществ и питания растения, при этом интенсивность микоризной инфекции арбускулярных микоризных грибов резко снижается, так как растение-хозяин не нуждается в дополнительном источнике питательных веществ со стороны гриба-микоризообразователя [1, 3]).

Проведенные ранее нами исследования микосимбиотрофизма луковичных эфемероидов в полупустынной зоне, нижнего течения, правобережья р. Или (каз. Иле) (близ урочища Кербулак (Алматинская обл.)) также показали, что для представителей родов *Tulipa* (*T. alberti* Regel - тюльпан Альберта, *T. behmiana* Regel - тюльпан Бема (сем. *Liliaceae*)) и *Allium* (*A. alberti* Regel - лук Альберта, *A. iliense* Regel - лук илийский, *Allium sp.* (сем. *Alliaceae*)) характерна 100 % частота встречаемости микоризной инфекции, то есть, как и для *C. alataviscus* не микоризные экземпляры не типичны.

В какой-то степени соотносятся с описанными выше данными результаты исследований злаков, правобережья р. Или: наибольшая интенсивность инфекции встречалась, у многолетних злаков, таких как *Agropyron repens*, *Stipa capillata* и *Stipa sp.*, *Aeluropus litoralis* (Zouan.) Parl. которая в отдельных случаях достигала 20 %. При этом, в образцах корневых систем прибрежницы солончаковой (*Ae. litoralis*) в отдельных случаях интенсивность микоризной инфекции достигала в среднем 40-60 %. Кроме того, все образцы корневых систем этих злаков имели микоризу, выраженную в той или иной степени – частота встречаемости микоризной инфекции составила 100 %. Что, судя по всему, обусловлено более развитой (более глубокой) корневой системой. В то время, как у одно-, двулетних злаков, являющихся по сути эфемероидами с коротким периодом вегетации, корневая система поверхностная, слабо развитая [6].

У одно-, двулетних злаков (*Poa bulbosa* L., *Bromus tectorum* L., *Eremopyrum triticeum* (Gaertn.) Nevski., *E. orientale* (L.) Jaub. et Spach., *E. hirsutum* (Bertol.) Nevski.) большинство исследованных растений были немикоризными – частота встречаемости микоризной инфекции 10,2 %, остальные экземпляры были слабомикотрофными – микоризная инфекция не превышала в среднем 4,4 % (*Poa bulbosa*). При этом, у злаков, произраставших в относительной близости от реки (17 – 170 м), микоризная инфекция возрастала до 22 %. Однолетние пред-

ставители семейства злаков являлись по сути факультативными микотрофами [6].

Таким образом, проведенные нами исследования эфемероида шафрана алатавского (*C. alataviscus*) в районе пос. Кыргауылды (Алматинская область), низкогогорья Заилийского Алатау показали, что изученные представители данного вида являются среднемикотрофными: максимальная интенсивность микоризной инфекции исследованных экземпляров достигала 62,8 %, средний показатель интенсивности микоризной инфекции составил 48,6 %. При этом, наибольшее количество структур гриба-микоризообразователя составили арбускулы (29,0 %), что указывает на интенсивный обмен питательными веществами между симбионтами, в то время как везикулы – отвечающие за накопление питательных веществ и переживание неблагоприятных условий окружающей среды встречались крайне редко (0,1 %). Немикоризные экземпляры среди *C. alataviscus* не выявлены, частота встречаемости микоризной инфекции достигала 100 %.

Судя по всему, хорошо развитая корневая система, наличие запасов питательных веществ в луковице, активный рост в период наиболее благоприятных погодных условий, наличие влаги – все эти факторы способствуют развитию микоризообразования и высоких показателей микосимбиотрофизма, в частности максимальной частоты встречаемости микоризной инфекции среди луковичных эфемероидов, в том числе у Шафрана алатавского (*C. alataviscus*).

Данные полученные в ходе проведения исследования арбускулярных микориз луковичных эфемероидов могут быть использованы в ходе разработки мероприятий по рекультивации нарушенных аридных территорий – в условиях недостатка влаги и короткого периода вегетации пустынных растений, когда необходимо максимально эффективно использовать для восстановления почвенного и растительного покрова короткий весенний сезон, с оптимальными параметрами для роста растений (температуры, влажности).

Список литературы

1. Смит С.Э., Рида Д.Д. Микоризный симбиоз. - М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. – 799 с.
2. Селиванов И.А. Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза. - М.: Наука. 1981. - 177 С.
3. Ивашенко А.А. Тюльпаны и другие луковичные растения Казахстана. – Алматы: 2005. – 192 с.
4. Ивашенко А.А. Цветковые растения Юго-Востока Казахстана: полевой определитель наиболее распространенных видов. – Алматы: Ассоциация сохранения биоразнообразия Казахстана, 2008. – 184 с.
5. Phillips J.M., Hayman D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. mycol. Soc. - 1970, v.55, P. 158 – 161.
6. Касымбеков Б.К., Фалеев Д.Г., Абидкулова К.Т. Интенсивность микоризной инфекции злаковых правобережья нижнего течения реки Или. Вестник КазНУ, серия биологическая. №1, (40), 2009 г. С. 23-28.

СОВМЕСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *AUREOBASIDIUM PULLULANS* С МИКРОВОДОРОЛЯМИ ВИДОВ *NEOCHLORIS OLEOABUNDANS* И *CHLORELLA VULGARIS*

Геворгян С. А.¹, Хачатурян Н. С.¹, Гогинян В. Б.¹, Матевосян Р. Э.², Ованисян Н. А.¹

¹Центр депонирования микробов НППЦ “Армбиотехнология” НАН РА, Ереван

²Ереванский государственный университет

Мутуалистические взаимодействия между микроводорослями и микроскопическими грибами, из-

вестные как лишайники, широко распространены в природе. О составе ассоциаций нелихенизированных

грибов и микроводорослей, их природе и специфике взаимодействия мало что известно. Изучено ассоциативное взаимодействие нелихенизированных грибов *Aureobasidium pullulans* MDC 8269 и видов микроводорослей *Neochromis oleoabundans* Pa-022 и *Chlorella vulgaris* Pa-23 в экспериментальных условиях. *A. pullulans* является важным промышленным микроорганизмом, известным, как продуцент полисахарида пуллуана [1]. Другие метаболиты, вырабатываемые этими грибами, используются в качестве медицинских или пищевых добавок. Микроводоросли *N. oleoabundans* и *C. vulgaris* являются богатыми источниками витаминов, белков и липидов, используемых для производства биодизеля [2, 3]. Предполагается, что совместное культивирование *A. pullulans* MDC 8269 с *N. oleoabundans* или *C. vulgaris* Pa-23 приведет к увеличению продукции метаболитов, в частности жирных кислот.

Суспензию *A. pullulans* MDC 8269 добавляли в 100 мл среды Чапека, содержащей 1% сахарозы, и культивировали при 28°C на качалке, при 150 оборотах в минуту, в течение 48 часов, при постоянном освещении. К заранее приготовленным грибковым гранулам добавляли 5 мл суспензии водорослей (приблизительно 10^8). Совместное культивирование длилось в течение 5-ти дней в тех же условиях. Взаимодействие между *A. pullulans* MDC 8269 и *N. oleoabundans* Pa-022 и *C. vulgaris* Pa-23 наблюдалось под микроскопом. Микроскопический анализ выявил полную адгезию водорослей на поверхности грибов. Таким образом, были получены ассоциации *A. pullulans* MDC 8269 с *N. oleoabundans* Pa-022 и *C. vulgaris* Pa-23 (рис).

Производство жирных кислот в культуральной жидкости оценивали с помощью газовой хроматографии (Thermo Fisher Scientific Tracer 1310). Для проведения анализа были получены метиловые эфиры экстрагированных жирных кислот. Установлено, что содержание метил-цис-10-пентадеценоата (C15:1) и метил-пальмитата (C16:0) в культуральной жидкости *A. pullulans* MDC 8269/ *C. vulgaris* Pa-23 выше, чем в культуральной жидкости монокультур. Кроме того, метил-пентадеканат (C15:0) был обнаружен только в условиях совместного культивирования этих штаммов. Таким образом, совместное культивирование *A. pullulans* MDC 8269 с

C. vulgaris Pa-23 привело к увеличению продукции метил-цис-10-пентадеценоата (C15:1) и метилпальмитата (C16:0), а также к индукции продукции метил-пентадеканата (C15:0).

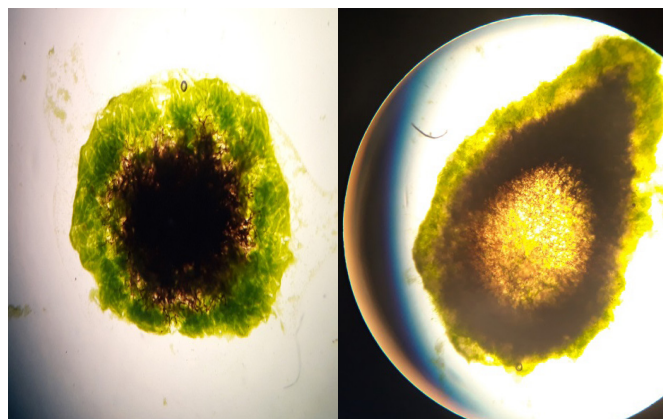


Рис. 1. Микроскопические изображения совместно культивируемых *A. pullulans* MDC 8269 с *N. oleoabundans* Pa-22 (1) и *A. pullulans* MDC 8269 и с *Ch. vulgaris* Pa-23 (2)

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета по науке МОНКС РА в рамках научного проекта № 21T-2H138.

Список литературы

1. Bradley S Campbell, Abu-Baker M Siddique, Barbara M McDougall, Robert J Seviour. Which morphological forms of the fungus *Aureobasidium pullulans* are responsible for pullulan production? FEMS Microbiology Letters, Volume 232, Issue 2, March 2004, Pages 225–228. DOI: 10.1016/S0378-1097(04)00076-X
2. Slusarczyk J., Adamska E. and Czerwik-Marcinkowska J. "Fungi and Algae as Sources of Medicinal and Other Biologically Active Compounds: A Review. Nutrients 2021, 13, 3178." (2021). DOI: 10.3390/nu13093178
3. Magdouli S., Brar S. K., and Blais J-F. "Co-culture for lipid production: advances and challenges." Biomass and Bioenergy 92 (2016): 20-30. doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.06.003

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГРИБКОВ В МЕНЯЮЩЕЙСЯ СРЕДЕ

Джафарзаде С. А

Институт Микробиологии Минобрнауки Азербайджанской Республики, Баку

В результате изменения окружающей среды модифицируется развитие грибковых инфекций. жара, засуха и инфекции *Sclerotinia* в совокупности увеличивают количество патогенов растений [2]. На различия географических регионов влияют климат и рельеф, а также температурный фактор. Для *P. infestans* в разных географических регионах наблюдались различия в изменении температуры [13]. Высокая влажность и теплая температура создают оптимальные условия для развития многих грибковых возбудителей. Теплая температура и определенный режим влажности создают оптимальную среду для развития многих видов грибковых возбудителей [11]. Было показано, что *Botrytis cinerea* и виноград лучше всего взаимодействуют, когда относительная влажность воздуха близка к 100% и температура составляет от 20 до 25 °C, а отклонения от этих идеальных условий приводят к резкому снижению заболеваемости

[1]. Множество факторов окружающей среды влияют на растения и грибковые патогены в полевых условиях. Для будущих исследований взаимодействия растений и патогенов остается сложной задачей понять, как взаимодействуют многочисленные факторы окружающей среды, влияющие на исход заболеваний. Изменение климата может существенно повлиять на распространение патогенов и появление новых грибковых патогенов. Изменение климата влияет на эти процессы, в результате меняя режимы температуры и влажности [9]. Разработка эффективных стратегий борьбы с болезнями требует понимания того, как взаимодействуют растительные грибы и температура. Чтобы понять это взаимодействие, необходимо использовать комбинацию подходов и экспериментов. Например, изучить влияние различных температурных режимов на рост, развитие и вирулентность растительных грибов в контролируе-

мых лабораторных экспериментах. Исследования могут включать изучение того, как температура влияет на рост спор, рост мицелия и размножение грибковых патогенов [7]. Применение пестицидов целесообразно только при наличии реальной или предполагаемой угрозы. Обычные средства защиты растений нарушают многие процессы, которые поддерживают полезный баланс между этими организмами в неэпидемических ситуациях [3]. Мутации генов патогенности растений не связаны с изменениями окружающей среды или появлением новых патогенов. Что касается адаптации патогенов к изменению климата, у нас имеется ограниченная информация [6]. Адаптация к изменению климата зависит от устойчивости и устойчивости, которые можно объяснить этими процессами. В таких стратегиях, как уничтожение вредителей и патогенов, существует риск циклов «бум-спад», когда используются высокоэффективные гены устойчивости или пестициды. Даже давняя устойчивость, такая как устойчивость пшеницы к стеблевой ржавчине Sr31, может быть преодолена новым *P. graminis* sp. triticumlike расы Ug99 [8]. Взаимодействия между растениями и грибами включают множество патогенов, которые ведут разный образ жизни (биотрофный или некротрофный) и задействуют различные пути защиты растений [12]. Изменение климата является причиной повышенного уровня CO₂ в растениях. Понимание того, как эти два фактора взаимодействуют друг с другом, является сложной, но важной областью исследований. Повышенное содержание CO₂ может поражать грибы и растения, изменяя их биологию, взаимодействие и исходы инфекции [10]. Механизмы абиотического стресса у растений, регулируемые изменением климата: комплексный обзор. Низкие температуры необходимы *P. infestans* для образования бесполой зооспор [4]. Образование зооспор оомицета регулируется протеинфосфатазой (Pin1C3), которая фосфорилирует РНК-полимеразу и другие регуляторы транскрипции. Поскольку Pin1C3 имеет промоторный элемент, индуцируемый холодом, транскрипцию можно индуцировать при 10 °C. Существует связь между температурой споруляции патогенов и температурой эпидемических вспышек *Phytophthora* и *Fusarium*. [5].

Список литературы

1. Ciliberti N., Fermaud, M., Roudet, J., Rossi, V., Environmental conditions affect Botrytis cinerea infection of mature grape berries more than the strain or transposon genotype. Phytopathology 105,2015, 1090–1096.

2. Chrsitian M.P,Uwe,S. Simultaneous application of heat,drought,and virus to Arabidopsis palnts reveals significant shifts in signaling networks .Plant Physiol., 2013, 162(4), 1849-1866. doi: 10.1104/pp. 113.221044
3. Grace M.A., Achick, T.-F.E., Bonghan, B.E., Bih, M.E., Ngo, N.V., Ajeck, M.J., Prudence, G.T.B., Ntungwen, F.C. An overview of the impact of climate change on pathogens, and pests of crops on sustainable food biosecurity. Int. J. Ecotoxicol. Ecobiol 4,2019, 114–119.
4. Guo T., Wang, X.-W., Shan, K., Sun, W., Guo, L.-Y., The loricrin-like protein (LLP) of Phytophthora infestans is required for oospore formation and plant infection. Front. Plant Sci. 8,2017, 142.
5. Migliorini, D., Ghelardini, L., Luchi, N., Capretti, P., Onorari, M., Santini, A., Temporal patterns of airborne Phytophthora spp. in a woody plant nursery area detected using real-time PCR. Aerobiologia 35,2019, 201–214.
6. Nelson J.T., Motamayor, J.C., Cornejo, O.E., Environment and pathogens shape local and regional adaptations to climate change in the chocolate tree, Theobroma cacao L. Mol. Ecol.2021, 30, 656–669.
7. Piao, S., Liu, Q., Chen, A., Janssens, I.A., Fu, Y., Dai, J., Liu, L., Lian, X., Shen, M., Zhu, X., Plant phenology and global climate change: current progresses and challenges.2019, Global Change Biol. 25
8. Pranjali G., Navin K., Pankaj G.,* aAntibiotic resistance and its detection role of specific proteins of multidrag resistance (MDR) strains. 2013 ISSN 0974-1453 Gautam et al Biotechnology International 6(3): 2013,31-47
9. Singh B.K., Delgado-Baquerizo, M., Egidi, E., Guirado, E., Leach, J.E., Liu, H., Trivedi, P.,Climate change impacts on plant pathogens, food security, and paths forward. Nat. Rev. Microbiol.2023, 1–17.
10. Smita C., Gagan P.,Climate change regulated abiotic stress mechnabnsisms inn plants a comprehensive review Jan;41(1):1-31,2022, doi: 10.1007/s00299-021-02759-5.
11. Shamshiri R.R., Jones, J.W., Thorp, K.R., Ahmad, D., Man, H.C., Taheri, S.,Review of optimum temperature, humidity, and vapor pressure deficit for microclimate evaluation and control in greenhouse cultivation of tomato: a review. Int. Agrophys.2018, 32, 287–302
12. Saharan G.S., Mehta, N.K., Meena, P.D., Biometabolomics of host resistance to hemi-biotrophs and necrotrophs. In: Molecular Mechanism of Crucifer's Host- Resistance. Springer,2021, pp. 495–584.
13. Wu, E., Wang, Y.-P., Yang, L.-N., Zhao, M.-Z., Zhan, J., Elevating air temperature may enhance future epidemic risk of the plant pathogen Phytophthora infestans. J. Fungi 8,2022, 808.

АНАЛИЗ УСЛОВИЙ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ ЛЮЦЕРНЫ ХМЕЛЕВИДНОЙ: МОНО- И ДВОЙНАЯ ИНОКУЛЯЦИЯ ПРОРОСТКОВ МИКОРИЗНЫМИ ГРИБАМИ И РИЗОСФЕРНЫМИ ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ

Калинина Т.В., Железняков С.В., Якоби Л.М.
ВНИИСХМ, Санкт-Петербург-Пушкин

Ризосферные и симбиотические микроорганизмы играют важную роль в жизнедеятельности растений. Селекция полезных микроорганизмов является основой для разработки биологических препаратов обеспечивающих улучшение минерального питания сельскохозяйственных растений, повышение продуктивности и качества продукции. Цель настоящего исследования – в условиях вегетационного опыта изучить влияние инокуляции проростков однолетней люцерны хмелевидной штаммами грибов арбускулярной микоризы (АМ) и

ризосферных фосфатмобилизующих бактерий на рост и продуктивность растения и отобрать оптимальные композиции микроорганизмов в качестве потенциальных компонентов биопрепарата.

Изучено влияние моно- и двойной инокуляции проростков пятью штаммами грибов АМ - *Rhizophagus* sp. АМГ-2, *R. diaphanus* АМГ-3, *Glomus ambisporum* АМГ-4, *R. irregularis* АМГ-5 и *Funneliformis mosseae* АМГ-6, а также двумя штаммами ризосферных бактерий - *Agrobacterium radiobacter* 10 и *Pseudomonas chlororaphis*

ПГ-7. Грибы АМ (тип *Glomeromycota*) - облигатные симбиотрофы, обладают способностью улучшать минеральное (особенно фосфорное) питание растения-хозяина; были размножены в открытой горшечной культуре на плектрантусе южном для получения микоризованных корней, используемых в качестве инокулята. Оба штамма бактерий обладают фосфатмобилизующей способностью (1), а агробактерия – также способностью фиксировать атмосферный азот (2). Однолетняя люцерна хмелевидная – сильномикотрофное самоопыляемое растение, является модельным объектом при изучении условий становления эффективной АМ и механизмов, управляющих эффективностью АМ. Растения выращивали на почвенно-песчаном субстрате при средней обеспеченности фосфором. Субстрат был предварительно простерилизован; затем, за 9 суток до посадки проростков, в него была внесена водная суспензия микроорганизмов из исходной нестерилизованной почвы, пропущенная через мембранный фильтр с порами 29 мкм с целью создания микробиологических условий близких к естественной среде и удаления пропагул аборигенных АМ грибов, согласно методическим рекомендациям (3).

По результатам анализа растений проведенного на 54 сутки от посадки проростков установлено, что моноинокуляция штаммами АМ грибов - АМГ-3, АМГ-4 и АМГ-5, способствовала приросту урожая надземной массы, тогда как, инокуляция штаммами АМГ-2 и АМГ-6 была не эффективна, несмотря на образование АМ (рис. 1). В условиях моноинокуляции проростков АМ грибами также наблюдалось существенное повышение содержания общего фосфора в растительной массе, по сравнению с контролем (без инокуляции); исключение - образование микоризы с участием шт. АМГ-6, которая не повлияла на содержание фосфора в растительной массе (рис.2). Повышение уровня общего фосфора в растении в ответ на инокуляцию АМ грибами можно объяснить участием микосимбионта в транспорте фосфора в растение и влиянием АМ на активность первичного и вторичного метаболизма в растении. Результаты наблюдения свидетельствуют также, что шт. АМГ-6 отличался низкой симбиотической активностью – был неспособен стимулировать рост и снабжать фосфором растение-хозяина, что может быть обусловлено генотипическими особенностями штамма или зависимостью АМ от экологических факторов, например, от обеспеченности фосфором. В связи с этим шт. АМГ-6 представляет особый интерес при изучении условий эффективности АМ.

Моноинокуляция проростков штаммами фосфатмобилизующих бактерий не оказала существенного влияния на рост растения и накопление фосфора в надземной массе (рис.1 и 2). В то же время отдельные композиции штаммов грибов и бактерий способствовали приросту массы побегов: существенное повышение урожая по сравнению с контролем наблюдалось в варианте «*R. sp.* АМГ-2 + *P. chlororaphis* ПГ-7». Таким образом, композиция, составленная из «неактивных» в условиях моноинокуляции штаммов грибов и бактерий дала положительный результат. Существенный прирост побегов наблюдался также в вариантах «*R. diaphanus* шт. АМГ-3 + *A. radiobacter* шт. 10», «*R. diaphanus* шт. АМГ-3 + *P. chlororaphis* шт. ПГ-7» и «*R. irregularis* шт. АМГ-5 + *A. radiobacter* шт. 10»; таким образом, композиции штаммов микроорганизмов обеспечили дополнительный прирост урожая, относительно того, что был получен в условиях моноинокуляции АМ грибами. В то же время,

композиция, составленная из штаммов *G. ambisporum* АМГ-4 + *A. radiobacter* 10 оказала негативное действие на рост растения, тем самым нивелировав положительное влияние АМ, наблюдаемое в условиях моноинокуляции АМ грибом.

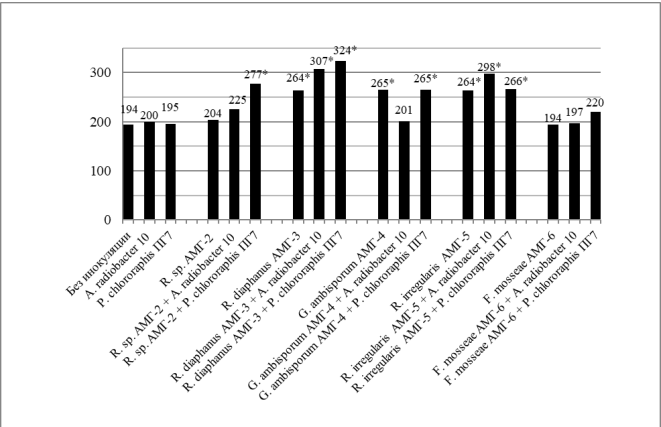


Рис. 1. Урожай сухой надземной массы люцерны хмелевидной (4 растения; мг/сосуд) в условиях моно- и двойной инокуляции проростков штаммами АМ грибов и фосфатмобилизующих бактерий; * - достоверные различия с контролем при 5% уровне значимости.

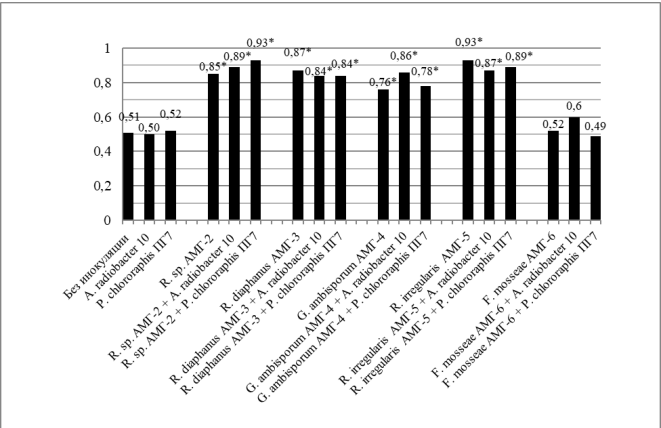


Рис. 2. Содержание общего фосфора в сухой надземной массе люцерны хмелевидной (в %) в условиях моно- и двойной инокуляции проростков штаммами АМ грибов и фосфатмобилизующих бактерий, и без инокуляции; * - достоверные различия с контролем при 5% уровне значимости.

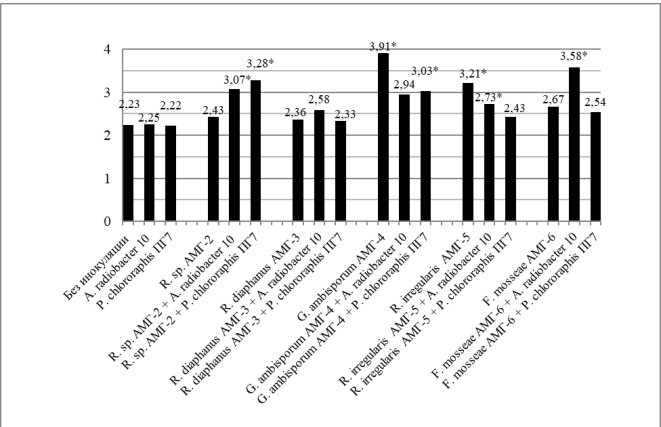


Рис. 3. Содержание белкового азота в надземной массе люцерны хмелевидной (в %) в условиях моно- и двойной инокуляции проростков штаммами АМ грибов и фосфатмобилизующих бактерий, и без инокуляции; * - достоверные различия с контролем при 5% уровне значимости.

Включение штаммов бактерий в состав инокулятов с АМ грибами не повлияло на содержание общего фосфора в надземной массе люцерны: этот показатель остался на уровне растений микоризованных в условиях моноинокуляции. Таким образом, увеличение содержания

общего фосфора в побегах люцерны относительно контроля наблюдалось только у микоризованных растений (исключение – шт. АМГ-6) и, очевидно, является следствием симбиотрофного фосфорного питания.

В условиях моноинокуляции проростков отдельными штаммами АМ грибов, а именно - АМГ-4 и АМГ-5, наблюдалось существенное увеличение содержания белкового азота в надземной массе люцерны (рис. 3); это свидетельствует о положительном влиянии АМ на активность первичного метаболизма растения-хозяина. В условиях двойной инокуляции также наблюдалось увеличение содержания белкового азота в побегах в отдельных вариантах опыта, а именно - «*R. sp.* шт. АМГ-2 + *A. radiobacter* шт. 10», «*R. sp.* шт. АМГ-2 + *P. chlororaphis* шт. ПГ-7» и «*F. mosseae* шт. АМГ-6 + *A. radiobacter* шт. 10»; при этом обращает на себя внимание то, что в состав композиций входят штаммы АМ грибов, которые не влияли на рост побегов в условиях моноинокуляции. В отличие от них, включение штаммов бактерий в В условиях моноинокуляции проростков отдельными штаммами АМ грибов, а именно - АМГ-4 и АМГ-5, наблюдалось существенное увеличение содержания белкового азота в надземной массе люцерны (рис. 3); это свидетельствует о положительном влиянии АМ на активность первичного метаболизма растения-хозяина. В условиях двойной инокуляции также наблюдалось увеличение содержания белкового азота в побегах в отдельных вариантах опыта, а именно - «*R. sp.* шт. АМГ-2 + *A. radiobacter* шт. 10», «*R. sp.* шт. АМГ-2 + *P. chlororaphis* шт. ПГ-7» и «*F. mosseae* шт. АМГ-6 + *A. radiobacter* шт. 10»; при этом обращает на себя внимание то, что в состав композиций входят штаммы АМ грибов, которые состав инокулятов со шт. АМГ-3 не оказало существенного влияния на содержание белкового азота в надземной массе, а включение их в состав инокулятов со штаммами АМГ-4 и АМГ-5 нивелировало положительное действие АМ на содержание

белкового азота, наблюдаемое в условиях моноинокуляции. При этом обращает на себя внимание то, что в состав трех перечисленных композиций входят штаммы АМ грибов, которые существенно увеличили урожай проростков в условиях моноинокуляции.

Таким образом, в ходе проведенного исследования выявлен межвидовой полиморфизм АМ грибов по таким показателям эффективности АМ как прирост урожая надземной массы и прирост содержания белкового азота в надземной массе люцерны хмелевидной относительно контроля, а также показана возможность улучшения показателей продуктивности за счет подбора оптимальных композиций микроорганизмов. Исследование показало, что микоризация является эффективным средством для повышения урожая надземной массы и качества продукции, а ее потенциал может быть увеличен за счет селекции активных штаммов грибов АМ и поиска «помощников» АМ.

Список литературы

1. Железняков С.В., Калинина Т.В., Деева В.К., Лактионов Ю.В., Якоби Л.М. Изучение фосфатмобилизующей способности штаммов *Agrobacterium radiobacter* 10 и *Pseudomonas chlororaphis* ПГ7 in vitro. Сельскохозяйственная биология, 2022, том 57, № 1, с. 158-170; doi:10.15389/agrobiology.2022.1.158rus.
2. Павлова В.Ф., Муромцев Г.С., Гетманская О.И. Штамм бактерий *Agrobacterium radiobacter* ВНИИСХМ-10 для получения удобрения под овощные культуры. База патентов СССР, № патента: 1756318. ВНИИСХМ. Заявка 4665197 23.03.1989. МПК: C05F 11/08, C12N 1/20. Опубл. 23.08.1992.
3. Wamberg C., Christensen S., Jakobsen I., Muller A.K., Sørensen S.J. The mycorrhizal fungus (*Glomus intraradices*) affects microbial activity in the rhizosphere of pea plants (*Pisum sativum*). Soil Biology and Biochemistry. 2003, 35: 1349-1357; doi:10.1016/S0038-0717(03)00214-1.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ С ПОВЕРХНОСТИ КОРНЕЙ КИТАЙСКОЙ КАПУСТЫ, С МИКРОМИЦЕТОМ *FUSARIUM OXYSPORUM* L.

Леус Т.В., Иванова А.А., Коршунов Д.В., Морозова Ю.А., Смолянина С.О., Ильин В.К.

ГНЦ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Фузариозное увядание, вызываемое микромицетом *Fusarium oxysporum* L., входит в число самых распространенных заболеваний сельскохозяйственных культур. Заболевание поражает как молодые, так и взрослые растения, потери урожая при этом может достигать 25%. Основными признаками заболевания являются пожелтение листьев и потеря тургора, а также кольцо буро-коричневого цвета на поперечном срезе листовых черешков и стебля. Химические методы защиты, несмотря на свою эффективность, приводят к загрязнению окружающей среды, разрушая биологическое равновесие в природных биогеоценозах, накопление остаточных количеств фунгицидов в сельскохозяйственной продукции, а также к формированию резистентности у фитопатогенов [1, 2]. Вышеназванные проблемы еще более остро стоят в биолого-технических системах жизнеобеспечения в пилотируемых космических аппаратах в связи с жестким требованием минимизации химического загрязнения внутренней среды [3]. Альтернативным методом борьбы с болезнями растений является биологический метод, основанный на использовании

бактерий и грибов, подавляющих развитие фитопатогенных микроорганизмов либо повышающих естественный иммунитет растения к заболеваниям [4, 5]. Целью нашей работы явилось изучение взаимоотношений различных видов ризосферных бактерий, выделенных с поверхности корней китайской капусты *Brassica chinensis* L., с микромицетом *Fusarium oxysporum* L. и определение возможности использования выделенных бактерий в качестве агентов биоконтроля.

В ходе работы было проведено 3 вегетационных опыта с китайской капустой длительно 24 суток, а также серия опытов *in vitro* с выделенными культурами микроорганизмов. В вегетационных опытах растения выращивали в кюветах прямоугольной формы размерами 20×5×2 см на гидрофильных мембранах из мелкопористого титана, поверх которых укладывали слой волокнистого ионообменного почвозаменителя БИОНА-ВЗ-ИМПАКТ толщиной 0,5 см. Кюветы были соединены с резервуарами, заполненными стандартным питательным раствором, откуда раствор поступал в подмембранное пространство и – через пористую

мембрану – в волокнистый почвозаменитель. Такая технология выращивания растений была предложена для системы корневого снабжения в космической витаминной оранжерее «Витацикл-Т», изготавливаемой в настоящее время для Российского сегмента МКС [3]. Микробиологические пробы отбирали с поверхности корней, вырезая из корневого мата сегменты массой 0,1 – 0,2 г и помещая их в стерильные пробирки. Взятые образцы помещали в пробирки с 10 мл стерильной дистиллированной воды, встряхивали на вортексе в течение 15 сек. и высевали полученные суспензии на чашки Петри с микробиологическими средами: Сабуро (для учета микромицетов), Эндо (для учета энтеробактерий) и питательный агар (для учета гетеротрофных бактерий). Идентификацию микроорганизмов осуществляли на аппарате Maldi Tof (США). В вариантах с искусственным заражением растений культуры бактерий, выделенных с поверхности корней здоровых растений, вносили одновременно с посевом семян, а культуру *Fusarium oxysporum* L. – на 10-е или 19-е сутки вегетации. В опытах *in vitro* бактериальные культуры пересеивали методом уколов по 4 в чашку на питательную среду за 72 часа до внесения культуры *Fusarium oxysporum* L. Через 72 часа бактерии убивали хлороформом и заливали сверху средой сабуро с суспензией культуры микромицета.

В ходе проведенных экспериментов были выделены в чистую культуру и идентифицированы бактерии *Bacillus cereus* L. являющиеся основными компонентами микробного сообщества на поверхности корневой системы растений, несколько видов бактерий рода *Pseudomonas*, а также *Achromobacter xylosoxidans* L. Было показано, что ризосферные бактерии, особенно *Bacillus cereus* L. обладают выраженным ростстимулирующим эффектом на растения китайской капусты. Наиболее вероятной причиной этого эффекта является усиление поглощения растениями нитрат-анионов вследствие подкисления прикорневой зоны бактериальными метаболитами. При искусственном заражении корнеобитаемой зоны микромицетами *Fusarium oxysporum* L. исследованные виды бактерий проявили фитопротек-

торные свойства, прежде всего при заражении растений на ранних этапах вегетации. Вместе с тем в опытах *in vitro* не было выявлено выраженного антагонизма между обитающими на поверхности корней бактериями и *Fusarium oxysporum* L., хотя бактерии *Achromobacter xylosoxidans* L. в ряде случаев проявляли слабый антагонизм по отношению к микромицету. Полученные результаты свидетельствуют, что фитопротекторный эффект ризосферных бактерий был обусловлен главным образом формированием этими бактериями мощных биопленок, препятствующих контаминации корней чужеродными микроорганизмами.

Исследование проведено в рамках тематики РАН и является частью работы лаборатории по созданию космической оранжереи.

Список литературы

1. Gerhardson B. Biological substitutes for pesticides. . Trends Biotechnol. – 2002. 20:338–343. DOI: 10.1016/S0167-7799(02)00201-8
2. 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.
3. 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.
4. Pandey P.K., Samanta R., Yadav R.N.S. Plant beneficial endophytic bacteria from the ethnomedicinal *Mussaenda roxburghii* (Akshap) of Eastern Himalayan province, India. . Adv Biol. – 2015. 580510:8. DOI: 10.1155/2015/580510
5. 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

ПЕРВИЧНАЯ ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ И НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ СИМБИОНТОВ РОССИЙСКОГО ТРЮФЕЛЯ *TUBER AESTIVUM*

Малыгина Е.В., Имидоева Н.А., Бельшенко А.Ю., Дмитриева М.Е.,

Моргунова М.М., Кулинич С.В., Вавилина Т.Н., Аксёнов-Грибанов Д.В.

Иркутский государственный университет

Трюфелевые грибы относятся к аскомицетам, плодовые тела которых образуются благодаря микоризному симбиозу с корневой системой различных пород деревьев, таких как дуб, лесной орех, сосна и т.д. [1]. Трюфели – одна из наименее изученных групп грибов с точки зрения их биологии и биотехнологии. Так перспективным направлением на сегодняшний день выступает разработка методик культивирования трюфелевых грибов в контролируемых лабораторных условиях. Разнообразное и сложное микробное сообщество симбионтов, включающее бактерии, дрожжи и грибы, интенсивно колонизирует трюфели на всех стадиях их жизненного цикла, что затрудняет получение его чистой культуры.

Целью данного исследования было выделение грибов, обитающих в трюфелях, и также оценка метагеномных сообществ наиболее распространенного российского летнего трюфеля *Tuber aestivum*. Для этого плодовые тела черного трюфеля были собраны в окрестностях города Сочи. Фрагменты плодовых тел (n=6) отобраны для анализа разнообразия прокариот с помощью метагеномного профилирования по гену 16S и 18S рРНК и биоинформатического анализа. Для выделения штаммов грибов-симбионтов трюфеля *T. aestivum* фрагменты их глебы измельчали в стерильной дистиллированной воде. Полученные пробы далее были посеяны газоном на солодовый и картофельно-декстрозный агар. Для предотвращения контаминации в среды были

добавлены антибиотики, такие как цефтриаксон и фурацилин.

Биоинформатическая обработка данных, полученных в ходе метагеномного анализа, прокариотическое сообщество *T. aestivum* (г. Сочи), было представлено филой *Proteobacteria* (OTU 99,88±0,11) и несколькими минорными филами: *Actinobacteria* (OTU 0,008±0,00051%), *Bacteroidetes* (OTU 0,05±0,001%), *Cyanobacteria* (OTU 0,1±0,07%), *Firmicutes* (OTU 0,09±0,04%).

Сообщество прокариот *T. aestivum* (г. Сочи) также было представлено 27 родами бактерий. Доминирующей группой была группа бактерий *Pseudomonas* sp. (OTU 19,94±17,15%), населяющих плодовые тела *T. aestivum*. Помимо этого, преобладающие группы бактерий были представлены следующими родами, как *Rahnella* sp. (OTU 4,3 ±0%), *Enterobacter* sp. (OTU 2,0 ±0,46%), *Stenotrophomonas* sp. (OTU 1,3±1,10%). Кроме того, несколько второстепенных групп бактерий были обнаружены в плодовых телах трюфельных грибов (OTU менее 1 %). Так, в состав минорных групп бактерий входили рода *Acinetobacter* sp., *Citrobacter* sp., *Comamonas* sp., *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Lactobacillus* sp., *Massilia* sp., *Nitrobacter* sp., *Nocardioideis* sp., *Pedobacter* sp., *Ralstonia* sp., *Raoultella* sp., *Rahnella* sp., *Rhizobium* sp., *Sphingobacterium* sp. и *Staphylococcus* sp.

Бактериальное сообщество плодовых тел *T. aestivum* содержало несколько идентифицированных видов: *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes*.

Согласно материалам метагеномного анализа, эукариотическое сообщество черного трюфельного гриба *T. aestivum* (г. Сочи) (OTU 52,3±5,26%) состояло из грибов (OTU 74,34±3,17%), протистов (OTU 10,6±4,7%) и доли неописанных таксонов (15,06±1,32%). Сообщество грибных симбионтов *T. aestivum* было представлено 13 родами, такими как *Alternaria* sp. (OTU 3,4±0%), *Ascobolus* sp. (OTU 4,4±2,42%), *Cladophialophora* sp. (OTU 1,6±0%), *Holtermanniella* sp. (OTU 1,8±0 %), *Hyaloscypha* sp. (OTU 2,7±0%), *Mortierella* sp. (OT 1,1±0,47%), *Penicillium* sp. (OT 4,9±2,57%), *Papulaspora* sp. (OTU 3,03±0%), *Psathyrella* sp. (OTU 0,73±0%), *Rhodotorula* sp. (OTU 2,03±0%) и *Tylospora* sp. (OTU 4,5±0%).

Среди эукариотического разнообразия несколько микроорганизмов были идентифицированы до вида: *Alternaria metachromatica*, *Cladophialophora chaetospora*, *Holtermanniella festucosa*, *Mortierella polygonia*, *Papulaspora equi*, *Penicillium aethiopicum*, *Penicillium bialowiezense*, *Penicillium thomii*, *Psathyrella pygmaea*, *Rhodotorula dairenensis*.

Оценка прокариотического состава трех различных образцов плодовых тел трюфельных грибов *T. aestivum* во всех образцах показала преобладание класса *Gammaproteobacteria*. Его представители, такие как *Pseudomonas* sp., *Rahnella* sp., *Enterobacter* sp. и *Stenotrophomonas* sp., преобладали в пробах данных грибов. В исследовании, проведенном Vahdatzadeh M. et al. [2], была продемонстрирована зависимость классов бактерий, ассоциированных с трюфелем *T. aestivum*, от свежести, а также условий хранения этих продуктов. Сравнение недавно опубликованных данных и данных, полученных в текущих экспериментах, позволило установить, что классы бактерий, обнаруженные в образцах трюфельных грибов *T. aestivum*, характерны для несвежих грибов, несмотря на свежий вид грибов и соответствующие условия транспортировки.

Микробиом грибов *T. aestivum* содержал грибы родов *Ascobolus* sp., *Mortierella* sp., *Holtermanniella* sp., *Papulaspora* sp., *Psathyrella* sp., *Rhodotorula* sp. были обнаружены у представителя русских трюфелей. Данные организмы представляют собой почвенные грибы, предварительно выделенные из гниющих растительных остатков или навоза жвачных животных. Такая особенность указывает на то, что эти микроорганизмы, вступающие в симбиоз, позволяют трюфелю более эффективно колонизировать корни растений с помощью специфического набора целлюлаз и гидролаз [3].

Культивируемые грибы-симбионты трюфелей были выделены и идентифицированы, как *Fusarium* sp., *Clonostachys* sp., *Plectosphaerella* sp. и *Trichothecium* sp. Грибы вида *Trichothecium crotocinigenum* (также широко известный как известный также как *Acremonium crotocinigenum*) являются причиной широко распространенной эпидемии гнили, поражающей культуры *T. melanosporum* в трюфельных фермах в Австралии. Данная эпидемия длится уже несколько лет и привела к потере более 50 % урожая трюфелей. в некоторых случаях. Однако стоит отметить, что *T. crotocinigenum* ранее был обнаружен в плодовых телах *Tuber maculatum Vittad* в Нидерландах [4]. Результаты идентификации штаммов грибов выявили олиготрофный род грибов *Plectosphaerella*. Они являются патогенами нескольких видов растений и описаны как компонент почвы тех лесов, в которых растут белые трюфели [5].

Таким образом, учитывая полученное на данном этапе разнообразие грибных симбионтов трюфелей, можно предположить, что данные грибы играют роль в формировании плодовых тел трюфельных грибов. Данное исследование дает новое и актуальное представление о микробиоме трюфелей, расширяет область исследования российских трюфелей и поднимает вопросы, касающиеся функционирования и эволюции грибов, ассоциированных с трюфельными грибами.

Исследование выполнено при финансовой поддержке проекта Российского Научного Фонда № 22-76-10036.

Список литературы

1. Zambonelli A., Iotti M., Murat C. (ed.). True Truffle (*Tuber* spp.) in the World: Soil Ecology, Systematics and Biochemistry. – Springer, 2016. – Т. 47.
2. Vahdatzadeh M., Deveau A., Splivallo R. The role of the microbiome of truffles in aroma formation: a meta-analysis approach // Applied and Environmental Microbiology – 2015. – 81. № 20. – P. 6946–6952.
3. Marino A., Ori F., Pacioni G., Leonardi M., Iotti M. Characterization of culturable truffle-inhabiting fungi isolated from *Tuber melanosporum*, *T. aestivum* and *T. borchii* ascomata // Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology. – 2023. – Т. 157. – №. 5. – С. 978-983.
4. Pacioni G., Leonardi M. Truffle-inhabiting fungi // True truffle (*Tuber* spp.) in the world: soil ecology, systematics and biochemistry. – 2016. – С. 283-299.
5. Marozzi G., Benucci G., Turchetti B., Massaccesi L., Baciarelli L., Bonito G., et al. Fungal and bacterial diversity in the *Tuber magnatum* ecosystem and microbiome // Microbial ecology. – 2023. – Т. 85. – №. 2. – С. 508-521.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭНДОМИКОРИЗЫ НА АГРОХИМИЧЕСКИЕ И МИКОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОЧВЫ В РИЗОСФЕРЕ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ

Митин Д.Н., Ларина Г.Е., Казакова А.А., Серая Л.Г.

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Большие Вяземы

Введение. Среди растений различают 3 группы: не развивающиеся из семян без заражения грибом-симбионтом (орхидные); растения, способные расти без микоризы, но значительно лучше развивающиеся при заражении грибом (многие деревья, кустарники); растения, нередко имеющие микоризу, но в благоприятных условиях питания хорошо развивающиеся и без заражения грибом (липа, берёза, многие кустарники). Сапрофитные грибы, входящие в состав препарата, образуют микоризу с корнями многих групп культурных растений, в том числе: облигатными микотрофами, т.е. растениями, которые нормально растут и развиваются лишь в присутствии грибов или при наличии микоризы, обязательной для их корневого питания: конопля, морковь, оливы, лук-репка, лук-порей, чеснок, сорго, кукуруза, газонная трава; факультативными микотрофами т.е. растениями, которые могут расти при слабом заражении микоризными грибами, либо совсем без них, но наличие микоризы значительно улучшает их корневое питание: яблоня, груша, вишня (черешня), косточковые (персик, манго), томат, картофель, подсолнечник, артишок, авокадо, спаржа, банан, какао, цитрусовые (лимон, апельсин), кофе, хлопок, инжир, кокос, дыня, арбуз, батат, чай, табак, земляника, вика; не образует микоризу (чаще всего подавляют рост грибов): свекла столовая, свекла сахарная, капуста белокочанная, капуста-брокколи, цветная капуста, горчица, рапс, шпинат, репа и др.

Цель исследования изучение изменений почвенных условий и морфологической реакции тестовой культуры при проведении микоризации грибами рода *Glomus* корневой системы яровой пшеницы.

Методы и объекты. Исследования проводили в серии опытов на культуре пшенице озимой сорта «Дарья» (всхожесть 92%). В качестве торфяного субстрата брали нейтрализованный верховой торф «АгроБалт-С» с фракцией 0-10, добытый фрезерным способом с низкой степенью разложения. Стартовые агрохимические показатели были $\text{pH}_{\text{вод}}=6,6$, NPK (120:80:140 мг/кг), магний 30 мг/кг, кальций 170 мг/кг, содержание органического вещества – 80%. В опытах изучали следующие варианты: субстрат нестерильный без микоризы (Вариант 1); нестерильный с микоризой (Вариант 2); стерильный без микоризы (Вариант 3); стерильный с микоризой (Вариант 4). Перед посевом культуры субстрат в варианте 3 и 4 проливали кипятком (процедура стерилизации), в варианте 2 и 4 в субстрат вносили препарат «Rootella F» производство «Grondwork BioAg, Ltd.», www.grondworkbioag.com (процедура микоризации) на основе эндомикоризных грибов *Glomus intraradices* и *G.mosseae*. Инструментальный контроль почвенных свойств (содержание NPK, электропроводность и др.) и морфометрические параметры тестовой культуры (высота зеленой части, длина корней) проводили с шагом 7 суток. Одновременно отбирали пробы субстрата из ризосферы культуры для проведения микологических исследований (посев на твердые агаризированные среды).

Обработку данных проводили с помощью программных средств Microsoft Excel (2013), применяли дисперсионный анализ при 95%-ом уровне вероятности (Pa).

Результаты и обсуждение. В серии опытов с микоризацией растения через субстрат, проанализирова-

ли состав комплекса грибов в корневой зоне и в объеме контейнера. Отмечено низкое биоразнообразие, которое было представлено с учетом вариантов опыта: (1) *Clonostachys*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Penicillium*, (2) *Clonostachys*, *Trichoderma*, *Chaetomium*, (3) *Clonostachys*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium*, (4) *Clonostachys*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*. Установлены различия по вариантам в видовом составе грибов рода *Trichoderma*: 1) *T. koningii* Oudem., *T. harzianum* Rifai, *T. viride* Pers., (2) *T. harzianum*, *T. viride*, (3) *T. koningii*, *T. harzianum*, *T. viride*, (4) *T. koningii*, *T. harzianum*, *T. viride*. Данные результаты позволяют предположить низкую конкурентоспособность *T. koningii* в условиях с нестерильной почвой и добавлением микоризы. Вариант 2 существенно отличался по составу грибного патоккомплекса, в нем идентифицирован гриб рода *Chaetomium*, который активно растет в почвах с высоким плодородием и уровнем доступных водорастворимых солей, т.е. является маркером таких условий. Данные почвенных свойств подтверждают более высокое плодородие в варианте 2 в течение первых двух недель после начала опыта и характеризуются содержанием азота 27-30 мг/кг, фосфора 36-42 мг/кг, калия 91-104 мг/кг, электропроводностью (Ес) от 370 до 430 мСм/м, по сравнению с прочими вариантами 1,3,4 – азот 25-30 мг/кг, фосфор 35-40 мг/кг, калий 87-99 мг/кг, Ес 362-424 мСм/м. Отметим, что в варианте 2 значения влажности почвы были ниже и равны 48-49% полная влагоемкости (ПВ), по сравнению с другими вариантами 1,3,4 – 51-60% ПВ. При активной работе и росте корневой системы быстрее расходуется почвенная влага, что косвенно характеризует в варианте 2 более здоровые и устойчивые к внешним факторам растения. Это подтверждает увеличение в варианте 2 свежей массы пшеницы на 39-62% и сухой 14-44%, по сравнению с вариантами 1,3,4.

Были построены регрессионные зависимости роста зеленой массы и длины корней в разных вариантах опыта в зависимости от продолжительности экспозиции. Получены следующие достоверные уравнения (y – длина органа растения, см; x – экспозиция в сутках):

Вариант 1 – (лист) не значимо, (корень) – не значимо;

Вариант 2 – (лист) $y = 6.5742x + 186.54$, $R^2 = 0.70$, (корень) – не значимо;

Вариант 3 – (лист) не значимо, (корень) – $y = 1.218x + 115.12$, $R^2 = 0.64$;

Вариант 4 – (лист) $y = 6.4394x + 139.56$, $R^2 = 0.82$, (корень) – $y = 2.0184x + 85.038$, $R^2 = 0.96$.

В вариантах 1 и 2 с нестерильным субстратом на рост корневой системы оказывал значительное влияние фактор автохтонной флоры, что не было учтено при проведении расчетов методом дисперсионного анализа (итог – не значимо). В вариантах со стерильным субстратом 3 и 4 получены достоверные зависимости для динамики роста корней, особенно в варианте 4, где микориза показала свою конкурентоспособность и положительное влияние на рост корней. Отметим, что прием микоризации дал существенный прирост надземной части растений в варианте 2 и 4, это подтверждают полученные достоверные регрессионные уравнения.

Заключение. Экспериментально показано, что прием микоризации почвенного субстрата, в который затем

высевали семена, положительно влиял на начальных этапах онтогенеза на рост корней, а затем в последующие фазы на увеличение надземной массы культурного растения (зерновые). В присутствии микоризы на основе грибов рода *Glomus* увеличивалась в почвенном растворе концентрация доступных растениям водорастворимых питательных соединений, что положительно отразилось на росте корней.

ЭНДОБАКТЕРИИ, ПАРАЗИТИРУЮЩИЕ В КЛЕТКАХ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*

Мурадова С.А.

Азербайджанский медицинский университет, Баку

В 2015 году мы опубликовали данные по исследованию методом оптического и электронного (ТЭМ) микрофотографирования взаимодействия бделловибриноподобных организмов (*Bdellovibrio*-like organisms — BLO), паразитирующих в клетках *Candida albicans* [1]. Результаты последующих исследований ставили под сомнение, что описанные микроорганизмы являются BLO, поэтому в данной работе мы представляем их как «эндобионты» (ЭБ).

Существует ограниченное количество примеров грибов, которые могут содержать внутриклеточные бактерии-паразиты (2,3,4). Показано, что эндобактерии грибов локализованы внутри вакуолей, связанных с мембраной (5). Предположительно, клетки грибов обеспечивают бактерии питательными веществами и защищают их от неблагоприятных условий (6). Биологическая значимость взаимодействия этих бактерий с грибами остается неизвестной.

Однако, отсутствует документированная литература о содержании эндобактерий у грибов рода *Candida*. Исходя из изложенного, целью настоящей работы явилось детальное изучение взаимоотношений эндобактерий с грибами рода *Candida*, так же определить является ли это феномен случайным.

Материалы и методы исследования: При исследовании использовали 117 штаммов грибов *Candida albicans*, выделенных от больных.

Выявление ЭБ проводили микроскопическими методами в препаратах «раздавленная капля», и в срезах, также в мазках окрашенные по методу Грамма с помощью оптического микроскопа. Препараты готовили из культур грибов, хранившихся при комнатной температуре в течение 3-5 суток после 2 суток инкубации.

Для электронной микроскопии использовали культуры *C. albicans* хранившиеся при комнатной температуре в течение 10-12 суток. После чего готовили суспензию из культуры, центрифугировали в течение 5 минут, к осадку добавляли фиксатор - 2,5% глутаровый альдегид в 0,1М буфере (pH 7,2). Для постфиксации использовали 1% тетраоксид осмия (OsO₄). Обезвоживание проводили в различных концентрациях этилового спирта (50%, 70%, 95%) и изготавливали блоки из аральдид-эпона (Ar.Ep). Указанные действия проводили согласно общеизвестной методике.

Из полученных блоков изготавливали ультратонкие срезы толщиной 60 нм соответственно на приборе LEICA EM KMR 3 на микротоме LEICA EM UC 7 и окрашивали 1% толуидиновым синим. Приготовленные препараты исследовали в просвечивающем электронном микроскопе JEM 1400 (Япония), в лаборатории электронной микроскопии АМУ под руководством профессора Э.К.Гасимова.

Список литературы

1. Eva Gómez-Molina et.al. Sequential application of inoculation methods for the mycorrhization of *Quercus ilex* seedlings with *Tuber melanosporum* DOI: 10.21203/rs.3.rs-2487888/v1
2. Гамзатова Х.М., Шагабудинова П.К., Адамова Р.М. Методика учета эндомикоризных грибов в корнях иван-чая узколистного (*Chamaenerium angustifolium* L.) // Вестник Дагестанского государственного университета. 2013. Вып. 1. С.143-147.

Результаты исследования и их обсуждение: В препаратах «раздавленная капля», ЭБ были обнаружены во всех выделенных штаммах (100% случаев), при культивировании грибов рода *C. albicans* во всех питательных средах, и их рост зависел не от питательных сред, используемых при культивировании. Физиологическом растворе и в дистиллированной воде, где отсутствуют питательные вещества для роста грибов, ЭБ наблюдаются с большей интенсивностью. Их рост можно наблюдать и в старых культурах, где питательных веществ в среде становится всё меньше. Необходимо отметить, что в жидких питательных средах внеклеточные формы бактерий обнаруживаются чаще, чем в твердых.

На рис.1 показаны клетки *C.albicans* в препарате «раздавленная капля», которые в течение 35 дней наблюдали под световым микроскопом где отмечалось постепенное уменьшение клеток *C.albicans* до полного исчезновения. Одновременно, было отмечено появление внеклеточных форм ЭБ, количество которых постепенно увеличивалось.

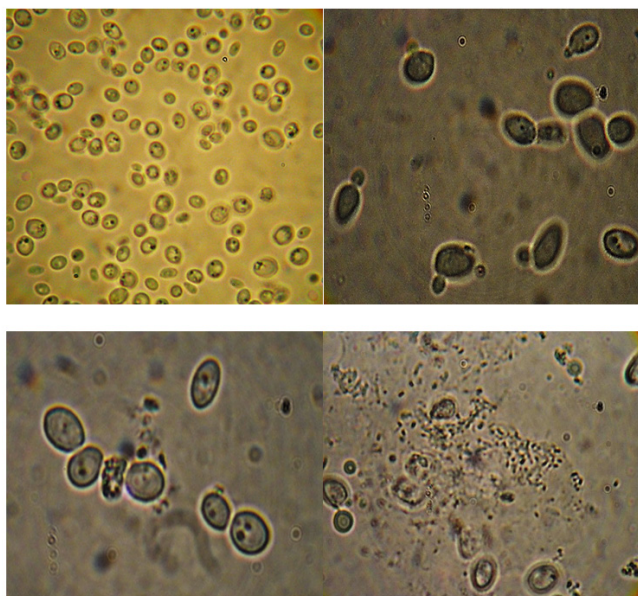


Рис. 1. *Candida albicans* в препарате «раздавленной капли» (x1000 - 1500).

В 30-дневных культурах заметные изменения наблюдаются в морфологических характеристиках большинства клеток *C. albicans*. При этом наблюдается увеличение клеток, неравномерно окрашенных в красно-розовый цвет (рис.2а), а также выход ЭБ (рис.2б). Обращают на себя внимание полный или частичный распад клеточной мембраны (рис.2в). Конечный результат развития ЭБ в клетках хозяина - это разрушенные

остатки кандид, а ЭБ становится всё больше и больше (рис.2г).

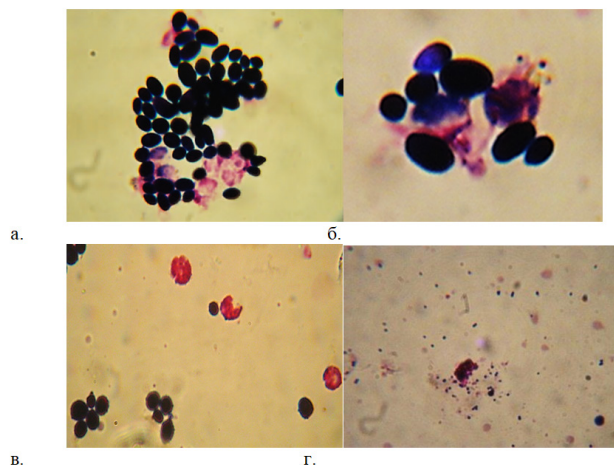


Рис. 2. *Candida albicans* в мазках окрашенные по методу Грамма.

- а. появление неравномерно окрашенных в красно-розовый цвет клеток;
б. выход ЭБ из клетки; в. полный или частичный распад клеточной мембраны;
г. внеклеточные формы ЭБ с капсулоподобным слоем.

Микроскопия полутонких срезов подтверждает результаты, полученные при светомикроскопических исследованиях (рис.3). Прежде всего наблюдается изменение пространственной реорганизации органелл. По мере размножения паразитов и выхода их из клетки плотная гомогенная структура клетки становится всё менее плотной (рис.3а), так как количество вакуолей, образующихся в клетке, увеличивается (рис.3б), по мере размножения ЭБ формируются «пустые» клетки (рис.3в).

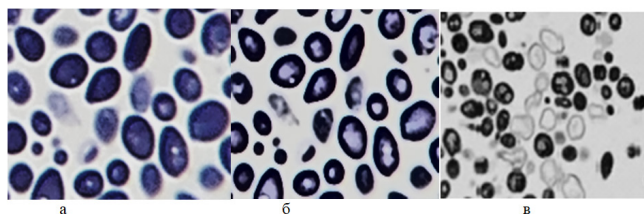


Рис. 3. Тонкий срез грибов *Candida albicans* под световым микроскопом.

- а- *C. albicans* клетки; б- слияние вакуолей кандид; в-нежизнеспособные клетки.

Изучение взаимоотношения ЭБ с грибами *C.albicans* под электронным микроскопом также подтвердили наши предположения. А при выходе паразитов из клетки происходит нарушение целостности клеточной стенки и на нем образуются рубцы (рис.4).

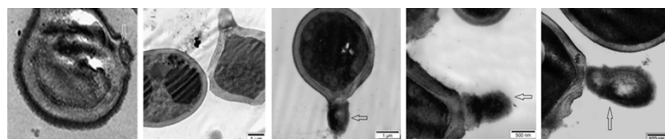


Рис. 4. Электронно-микроскопическое изображение *Candida albicans*: выход ЭБ из кандид-клетки.

Взаимоотношения бактерий с грибами рода *Candida* является еще одним примером микробного паразитизма и заслуживает внимание для изучения и обнаруже-

ние ЭБ в вакуоли гриба *Candida albicans* — явление не случайное.

Как было указано выше, в доступных литературных источниках нет сообщений о подобных бактериях, паразитирующих у грибов рода *Candida*. Но, обсуждается значение подобных вакуолей в вирулентности и устойчивости грибов. В частности, есть источники указывающие на значение этих вакуолей в стрессоустойчивости, полиризованном росте гифов грибов *Candida* (7,8).

Таким образом, междоменные микробные взаимодействия между прокариотами и эукариотами являются основой эволюции бактерий, обуславливают адаптацию прокариот в вакуолях эукариот, формирование новых биоваров, сероваров, защиту от иммунной системы хозяина, стрессо- и антибиотикоустойчивость с последующим размножением и сохранением в течение длительного времени.

Список литературы:

1. Мурадова С.А., Караев З.О., Курбанов А.И., Гурбанова С.Ф. Бделловибрионоподобные бактерии паразитирующие в клетках с грибов рода *Candida* // Современная микология в России, Материалы международного микологического форума, 2015. Том., стр.77-79.
2. Bianciotto V, Genre A, Jargeat P, Becard G, Bonfante P. // Vertical transmission of endobacteria in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* through generation of vegetative spores. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004; 70: 3600-3608.
3. Bianciotto V1, Lumini E, Lanfranco L, Minerdi D, Bonfante P, Perotto S. // Detection and identification of bacterial endosymbionts in arbuscular mycorrhizal fungi belonging to the family Gigasporaceae. *Appl Environ Microbiol.* 2000 Oct; 66(10):4503-4509.
4. 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.
5. Bianciotto V, Bandi C., Minerdi D. et al. An obligately endosymbiotic mucorrhizal fungus itself harbors obligately intracellular bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 1996; 62: 3005-3010.
6. Bianciotto V, Genre A, Jargeat P, Becard G, Bonfante P. // Vertical transmission of endobacteria in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* through generation of vegetative spores. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004; 70: 3600-3608.
7. Johnston DA, Eberle KE, Sturtevant JE, Palmer Ge. Role for endosomal and vacuolar, GTPases in *Candida albicans* pathogenesis. *Infect. Immun.* 2009. 77:p.2343-2355.
8. Barell GE, Richard LM, Gaillardin K. et al/ *Candida albicans* VAC8 is required for vacuolar inheritance and normal hyphal branching. *Eucaryo*

ДЕГРАДАЦИЯ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ БАКТЕРИАЛЬНО-ГРИБНЫМИ КУЛЬТУРАМИ

Позднякова Н.Н., Муратова А.Ю., Турковская О.В.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ Саратовский НЦ РАН

Почва является естественной средой обитания для разнообразных сообществ организмов, играющих важную роль в разложении органических веществ, круговороте углерода и утилизации разного рода поллютантов. Среди почвенных организмов особое значение имеют грибы и бактерии из-за многочисленности и выполнения ключевых ролей в функционировании экосистем. Многие грибы, вместе с бактериями, обитают в ризосфере растений, способствуя их росту [1].

Тип почвы, количество и состав питательных веществ, pH, влажность, температура и другие факторы определяют активность, разнообразие и состав сообществ почвенных организмов [2]. В условиях загрязнения к этим факторам добавляются еще и «природа», и концентрация загрязнителя [3].

Экологические эффекты, оказываемые грибами на обитающие в почве бактерии, могут быть положительными, нейтральными или отрицательными. В гифосфере (зоне окружающей грибные гифы) стимулируется рост бактерий, так как для бактерий по сети гиф становятся более доступны источники питательных веществ. Грибы обладают значительным потенциалом для изменения микросреды посредством продукции внеклеточных ферментов и органических соединений. Для грибной деградации доступны лигноцеллюлозные материалы (такие как остатки древесины), тогда как бактерии преимущественно используют растворимые органические соединения (например, сахара) [2]. В ряде случаев было показано, что сосуществование с грибным мицелием необходимо для биодеградации углеводородов бактериями [4]. Увеличение численности грибов может приводить к серьезным изменениям в микробном сообществе. В тоже время аборигенная микрофлора может противодействовать или конкурировать с грибами за ресурсы, ограничивающие рост грибного мицелия.

Взаимодействия между различными микроорганизмами в условиях загрязнения могут изменять как микробные сообщества почвы, так и их функции, в том числе, влияя на минерализацию или деградацию поллютантов [5]. Микромицеты, деградирующие топливо, могут существовать в форме ассоциаций с бактериями. В этом случае деградация топлива может быть синергическим процессом организмов-партнеров [6]. Большое количество экзоферментов, секретируемых микромицетами, повышает биодоступность гидрофобных органических загрязнителей в окружающей среде и способствует их эффективной деградации бактериями. Пути деградации у грибов и бактерий могут дополнять друг друга [4]. Подобная кометаболическая деградация приводит к полной утилизации поллютанта, так как метаболиты, образованные одним организмом, метаболизируются другими [2,3,5].

Одними из наиболее опасных загрязнителей окружающей среды являются полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), представляющие собой ароматические углеводороды, состоящие из двух и более конденсированных бензольных колец [7].

Молекулярными технологиями показано, что основными грибными «игроками» в загрязненных почвах являются представители филумов Ascomycota и, в мень-

шей степени, Basidiomycota. Аборигенные аскомицеты (в основном представители родов *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Debaryomyces*) являются доминирующим филумом грибов в загрязненной окружающей среде, где они могут трансформировать или деградировать ПАУ [8]. Метаболизирующие ПАУ аскомицеты условно могут быть разделены на две группы. Первая, подобно базидиомицетам, способна деградировать и минерализовать ПАУ посредством внеклеточных лигнинолитических (лигнин пероксидаза, Mn-пероксидаза, лакказа) и внутриклеточных (цитохром P450, эпоксигидролаза) ферментов. Продуктами первой атаки молекулы ПАУ являются соответствующие транс-дигидродиолы и хиноны, которые, через ряд этапов, включаются в основной обмен [9]. Эта группа включает представителей родов *Fusarium*, *Cladosporium*, *Trematophoma*, *Trichoderma*. Однако в природных экосистемах внеклеточные лигнин пероксидаза, Mn-пероксидаза и лакказа могут вносить ограниченный вклад в деградацию ПАУ, т.к. для их экспрессии у аскомицетов требуется наличие лигноцеллюлозных субстратов [8]. Вторая наиболее многочисленная группа аскомицетов, не продуцирующих внеклеточные лигнинолитические ферменты (*Aspergillus niger*, *Cunninghamella elegans*, *Cunninghamella japonica*, *Neurospora crassa*, *Penicillium chrysogenum*, *Mucor circinelloides* и другие) трансформирует и детоксицирует ПАУ, ферментные системы, катализирующие эти процессы, также как и у бактерий, внутриклеточные. Конечными продуктами являются глюкуронидные, глюконидные, ксизидные и сульфатные конъюгаты [8,9].

Исследований бактериально-грибных взаимодействий в процессе деградации ПАУ немного. Чаще всего они описывают использование бактериально-грибных консорциумов для биоремедиации загрязненных почв.

В наших исследованиях для изучения взаимного влияния бактерий и грибов в процессе деградации ПАУ использована модельная система, включавшая в себя стимулирующие рост растений ризобактерии *Azospirillum brasilense* (PGPR) и один из аскомицетов: *Fusarium oxysporum* (фитопатоген), *Talaromyces sayulitensis* (ризосферный), *Trichoderma viride* или *Trichoderma harzianum* (грибы, стимулирующие рост растений – PGPF). Показана способность этих грибов и *A. brasilense* в монокультурах метаболизировать как отдельные 3- и 4-кольцевые ПАУ (фенантрен, антрацен, флуорен, пирен, флуорантен), так и их смесь. Установлено, что все изученные штаммы метаболизировали ПАУ в смеси более активно, чем отдельные соединения. В бинарных культурах (гриб-бактерия) обнаружены три различных эффекта. *F. oxysporum* и *A. brasilense* оказывали угнетающее действие друг на друга, что выражалось в уменьшении сухой массы мицелия, количества КОЕ и деградации ПАУ. В совместных культурах *T. sayulitensis* оказывал угнетающее влияние на рост *A. brasilense*; в то же время в этих условиях отмечено увеличение деградации антрацена, пирена и флуорантена. Положительный эффект выявлен при совместном культивировании PGPR бактерий (*A. brasilense*) и PGPF аскомицетов (*T. viride* или *T. harzianum*), что выражалось в увеличении сухой массы мицелия и деградации ПАУ. В качестве основных метаболитов независимо от условий эксперимен-

та были обнаружены: 9,10-антрахинон, 9-флуоренон и 9,10-фенантренхинон. Обнаружена также продукция индол-3-уксусной кислоты и внеклеточных пероксидаз *F. oxysporum* и *T. sayulitensis*.

В наших экспериментах активностей внеклеточных оксидаз и пероксидаз у *T. viride* или *T. harzianum* обнаружено не было. По-видимому, деградация ПАУ исследуемыми штаммами *T. viride* или *T. harzianum* проходит по бактериальному пути, описанному ранее Надбарата с соавт. [10]. Выявленная нами 1-гидрокси-2-нафтоевая кислота, как основной метаболит деградации фенантрена *T. viride* или *T. harzianum*, подтверждает это предположение.

Полученная информация способствует пониманию бактериально-грибных взаимодействий в условиях загрязнения.

Работа выполнена в рамках темы госзадания №ГР 1022040700974-4.

Список литературы

1. Adedayo A.A., Babalola O.O. Fungi that promote plant growth in the rhizosphere boost crop growth. J. Fungi. 2023. 9: 239. Doi: 10.3390/jof9020239.
2. De Boer W. Upscaling of fungal-bacterial interactions: from the lab to the field. Curr. Opin. Microbiol. 2017. 37: 35-41.
3. Jambon I., Thijs S., Weyens N., Vangronsveld J. Harnessing plant-bacteria-fungi interactions to improve plant growth and

degradation of organic pollutants. J. Plants Interactions. 2018. 13: 119-130.

4. Wick L.Y., Remer R., Würz B., Reichenbach J., Braun S., Schäfer F., Harms H. Effect of fungal hyphae on the access of bacteria to phenanthrene in soil. Environ. Sci. Technol. 2007. 41: 500-505.
5. Thion C., Cebon A., Beguiristain T., Leyval C. Inoculation of PAH-degrading strains of *Fusarium solani* and *Arthrobacter oxydans* in rhizospheric sand and soil microcosms: Microbial interactions and PAH dissipation. Biodegradation. 2013. 24: 569-581.
6. Shapiro T., Chekanov K., Alexandrova A., Dolnikova G., Ivanova E., Lobakova E. Revealing of non-cultivable bacteria associated with the mycelium of fungi in the kerosene-degrading community isolated from contaminated jet fuel. J. Fungi. 2021. 7: 43.
7. Srivastava S., Kumar M. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A Sustainable approach. In Sustainable Green Technologies for Environmental Management, S. Shah et al. (eds.), Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2019. 6: 111-139.
8. Aranda E. Promising approaches towards biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons with Ascomycota fungi. Curr. Opin. Biotechnol. 2016. 38: 1-8.
9. Kadri T., Rouissi T., Brar S.K., Cledon M., Sarma S., Verma M. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by fungal enzymes: A review. J. Environmental Sciences. 2017. 51: 52-74.
10. Hadibarata T., Tachibana S., Itoh K. Biodegradation of phenanthrene by fungi screened from nature. Pak. J. Biol. Sci. 2007. 10: 2535-2543.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ КИШЕЧНЫХ ШТАММОВ *RHODOTORULA MUCILAGINOSA* НА СКОРОСТЬ РОСТА УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Прокопьев В.В.^{1,2}, Эпп Е.В.¹, Юрова В.А.²

¹ КДЛ Здоровье, Барнаул

² Алтайский ГМУ Минздрава России, Барнаул

Человек в течении всей своей жизни находится в постоянном взаимодействии с различными микроорганизмами как в окружающей среде, так и в «открытых» биотопах самого организма. Более того, последнее время был подвергнут сомнению постулат о колонизации различных биотопов после рождения. Появляется все больше доказательств, что взаимодействие с живыми микроорганизмами начинается задолго до рождения [1,2].

Первые работы, посвященные изучению микрофлоры человека связаны с Ильёй Ильичом Мечниковым и его работами по *Lactobacillus bulgaricus* [3].

Исследования микрофлоры в прошлом веке были ограничены лишь культивируемыми формами микроорганизмов. Идентификация основывалась, в большей степени, на оценке биохимических, морфологических и культуральных свойств.

Появление и увеличение доступности нового молекулярно-биологического инструментария привело к многократному увеличению количества работ, посвященных микрофлоре организма человека. Секвенирование нового поколения (NGS) с методами метагеномики и метатаксономики [4], а также масс-спектрометрия (MALDI-TOF) привели к пониманию того, что в микробиоте человека с представителями тысяч различных таксонов приводит к образованию огромного микробиома с самыми различными типами симбиотического взаимодействия между его представителями [5].

Среди всех микробиомов человека, наиболее крупным и значимым является микробиом кишечника, включающий в себя около 10^{14} микроорганизмов, относящихся к ~1000 видам [6]. Грибковый компонент микробиома кишечника составляет всего 0.1% от количества всех микроорганизмов [7] и в большей степени представлен дрожжами [8]. Несмотря на относительно небольшое количество, микромицеты кишечника оказывают большое влияние на физиологические [9] и патофизиологические процессы организма человека [10,11,12].

Обнаружение «новых» таксонов микромицетов ставит перед исследователями задачу определения типа симбиотического взаимодействия грибов с организмом человека и другими представителями микробиома кишечника.

В нашем исследовании мы оценили влияние экзо-метаболитов базидиомицетных дрожжей *Rhodotorula mucilaginosa* на скорость роста основных представителей бактериальной условно-патогенной флоры.

В работе были использованы пять штаммов *Rh. mucilaginosa*, полученных при культуральном исследовании кала пациентов амбулаторного отделения крупного медицинского центра. В качестве штаммов условно-патогенных бактерий (УПБ) были взяты штаммы Thermo Scientific™ Culti-Loops™: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Serratia liquefaciens* ATCC 12926, *Pseudomonas*

aeruginosa ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Экзометаболиты *Rh. mucilaginosa*, получали путём фильтрации 48-часовой культуры, выращенной на бульоне Сабуро, через фильтры MILLEX®GP (Merck Millipore Ltd.) с диаметром поры 0.22 мкм. Контроль стерильности фильтрата проводили путем его посева на среду Сабуро.

Для оценки влияния экзометаболитов *Rh. mucilaginosa* на скорость роста УПБ в лунки плоскодонных полистирольных 96 луночных планшетов с 170 мкл мясо-пептонного бульона (МПБ) вносили по 20 мкл фильтрата *Rh. mucilaginosa* и 10 мкл 24-часовой бульонной культуры исследуемой УПБ доведённой при помощи физиологического раствора до мутности равной одной единице по Мак-Фарланду. В контроле вместо фильтрата вносили 20 мкл бульона Сабуро.

Рост УПБ оценивали по изменению оптической плотности, которую измеряли при помощи микропланшетного фотометра Multiskan EX (Thermo Scientific) при длине волны 492 нм через 2, 4, 6, 8, 10 и 12 часов инкубации в аэробных условиях при 37°C.

Анализ и статистическую обработку данных осуществляли при помощи расчета Т-критерий Уилкоксона. Расчёт проводился при помощи онлайн-калькулятора https://www.statskingdom.com/175wilcoxon_signed_ranks.html (p<0,05).

Результаты оценки оптической плотности суспензий УПБ на МПБ после 12 часов инкубации при 37°C представлены в таб.№1.

Табл. 1. Оптическая плотность среды после 12 часовой инкубации УПБ при наличии и отсутствии экзометаболитов *Rh. mucilaginosa*.

УПБ	Контроль	Рост в присутствии экзометаболитов
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0,82±0,03	0,86±0,04
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	0,99±0,04	1,10±0,07
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	0,60±0,07	0,75±0,09
<i>Serratia liquefaciens</i> ATCC 12926	1,21±0,03	1,24±0,09
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1,17±0,07	1,35±0,04
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	0,64±0,13	0,72±0,04
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	0,89±0,05	1,03±0,10

По данным таблицы оптическая плотность культур УПБ в присутствии фильтрата *Rh. mucilaginosa* превышала контроль во всех случаях, но статистически достоверное влияние экзометаболитов было обнаружено только в случае *P. vulgaris* ATCC 13315 (P-value - 0.004883) и *P. aeruginosa* ATCC 27853 (P-value - 0.0004883). Несмотря на отсутствие статистически значимых отличий, возможно связанной с недостаточной выборкой, можно наблюдать тенденцию стимулирующего влияния экзометаболитов *Rh. mucilaginosa* на рост УПБ.

Экзометаболиты, синтезируемые в процессе инкубации микроорганизмов в монокультуре, будут существенно отличаться от экзометаболитов, продуцируемых теми же микроорганизмами, но в условиях микробиома. В случае роста в микробном сообществе, микроорганизмы вынуждены «включать» экспрессию генов, необходимых для взаимодействия с окружающей средой. В результате чего, помимо продуктов собствен-

ного метаболизма, могут экскретироваться различные типы аутоиндукторов, антимикробных веществ, «факторов роста» и т.д. Все вышеперечисленное определяет тип симбиотического отношения микроорганизмов в условиях микробиома.

В нашей работе мы не можем говорить о молекулярных механизмах межвидового взаимодействия, но результаты настоящего исследования позволяют предположить, что *Rh. mucilaginosa* может стимулировать рост УПБ в кишечнике человека, что в свою очередь может привести к воспалительным изменениям и/или дисбактериозу кишечника.

Список литературы

- Kennedy KM, de Goffau MC, Perez-Muñoz ME, Arrieta MC, Bäckhed F, Bork P et al. Questioning the fetal microbiome illustrates pitfalls of low-biomass microbial studies. *Nature*. 2023 Jan;613(7945):639-649. doi: 10.1038/s41586-022-05546-8.
- Stinson LF, Boyce MC, Payne MS, Keelan JA. The Not-so-Sterile Womb: Evidence That the Human Fetus Is Exposed to Bacteria Prior to Birth. *Front Microbiol*. 2019 Jun 4;10:1124. doi: 10.3389/fmicb.2019.01124.
- О диетическом значении «кислого молока» проф. Мечникова. Клинические наблюдения из СПб морского госпиталя доктора Г. А. Макарова. Издание К. Л. Риккерса Невский пр. 14. 1907 г.
- Bayar E, Bennett PR, Chan D, Sykes L, MacIntyre DA. The pregnancy microbiome and preterm birth. *Semin Immunopathol*. 2020 Aug;42(4):487-499. doi: 10.1007/s00281-020-00817-w.
- Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome*. 2015 Jul 30;3:31. doi: 10.1186/s40168-015-0094-5.
- Xie Y, Hu F, Xiang D, Lu H, Li W, Zhao A, Huang L et al. The metabolic effect of gut microbiota on drugs. *Drug Metab Rev*. 2020 Feb;52(1):139-156. doi: 10.1080/03602532.2020.1718691.
- Zhang F, Aschenbrenner D, Yoo JY, Zuo T. The gut mycobiome in health, disease, and clinical applications in association with the gut bacterial microbiome assembly. *Lancet Microbe*. 2022 Dec;3(12):e969-e983. doi: 10.1016/S2666-5247(22)00203-8.
- Прокопьев В.В., Куклина Н.В., Емельянова И.В., Звездикина Г.С. Анализ культивируемых грибов кишечника у пациентов с патологией желудочно-кишечного тракта и клинически здоровых людей. 2023; 25 (1): 19-24. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-1-19-24.
- Vivas W, Leonhardt I, Hünninger K, Häder A, Marolda A, Kurzai O. Multiple Signaling Pathways Involved in Human Dendritic Cell Maturation Are Affected by the Fungal Quorum-Sensing Molecule Farnesol. *J Immunol*. 2019 Dec 1;203(11):2959-2969. doi: 10.4049/jimmunol.1900431.
- Wu X, Xia Y, He F, Zhu C, Ren W. Intestinal mycobiota in health and diseases: from a disrupted equilibrium to clinical opportunities. *Microbiome*. 2021 Mar 14;9(1):60. doi: 10.1186/s40168-021-01024-x.
- Liguori G, Lamas B, Richard ML, Brandi G, da Costa G, Hoffmann TW et al. Fungal Dysbiosis in Mucosa-associated Microbiota of Crohn's Disease Patients. *J Crohns Colitis*. 2016 Mar;10(3):296-305. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjv209.
- Zou R, Wang Y, Duan M, Guo M, Zhang Q, Zheng H. Dysbiosis of Gut Fungal Microbiota in Children with Autism Spectrum Disorders. *J Autism Dev Disord*. 2021 Jan;51(1):267-275. doi: 10.1007/s10803-020-04543-y.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ГРИБОВ РОДА *ASPERGILLUS* SP. В ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ПРОДУКТЫ ПЧЕЛОВОДСТВА В ПРЕДГОРНЫХ И ГОРНЫХ РАЙОНАХ АЗЕРБАЙДЖАНА

Сеидова Г.М., Гаджиева С.В., Мурадова С.А
Азербайджанский Медицинский Университет, Баку,

Человек освоил азы пчеловодства еще в 600г до н.э. Все продукты, производимые пчелами, обладают особыми свойствами, которые можно отнести к биологически активным веществам, особое значение из которых имеет: мед, прополис, воск, маточное молоко, цветочная пыльца, собранная при облете и т.д. В современном мире все большее значение приобретают натуральные продукты, которые, применяются в медицине, косметологии, пищевой промышленности, общем укреплении организма в качестве антисептических средств против вирусных и бактериальных инфекций, нормализации обмена веществ, а также как природные иммуномодуляторы.

Материалы и методы: Для исследования были отобраны цветочные растения, являющиеся источником нектара для медоносных пчел и изучена их микобиота, взятая из различных горных и предгорных зон Азербайджана (Габала, Шамаха, Ленкорань, Астара). Взятый материал, исследовался известными микологическими методами (3-4) на наличие плесневых грибов, являющихся источником микотоксинов. В качестве питательных сред использовалась твердая среда Чапека, с температурой культивирования 26-28°C более двух недель (1).

Результаты: Исследование видового состава микобиоты растений, а также микобиоты пчел, собирающих цветочный нектар в различных в экологическом отношении условиях Азербайджана было установлено участие 28 видов грибов у которых 10,5% относится к классу Zygomycota, 89,5% к классу Ascomycota. Из класса Ascomycota в основном обнаруживались сумчатые анаморфные грибы (4) выявлено, что в формировании микобиоты участвуют как патогенные так и токсигенные грибы, которые опасны как для биологической продуктивности самих пчел, так и с точки зрения загрязнения их продуктов. Среди выявленных грибов, исследованных в данной работе наиболее распространенными были патогенные и эпифитные представители класса Ascomycetes из которых: 1. *Ascospora apis*, являющийся возбудителем аскосфероза и устойчивым к физико-химическим факторам окружающей среды.

Данный вид, часто встречающийся в более влажных южных регионах Азербайджана, каким является (Лен-

корань Астара) с субтропическим климатом, вызывает заболевание у пчел во время дождливой погоды, собирающих нектар с пораженных этим грибом растений (4). Среди выявленных грибов, также часто встречались грибы вида: *A.flavus*, *A.fumigatus*, *A.niger*, *A.nidulans* обнаруженные в предгорных районах Габала и Шамаха. Как известно, *A.flavus* – токсигенный гриб выделяющий афлатоксины, распространен повсеместно во всех исследованных регионах так является загрязнителем микобиоты растений. *A.nidulans* – является редким видом в Азербайджане встречающимся в Габала и выделяющим микотоксины стеригматоцистины. Грибы *A.niger* и *A.fumigatus*, также широко распространенный вид во всех исследованных районах, как в горных так и в предгорных районах а также в почве и на растениях, являются токсигенными, синтезируя афлатоксины и ократоксины (2).

Выводы: Проведение исследований по обнаружению формирования микобиоты растений, являющихся источником нектара медоносных пчел, позволяет заключить, что плесневые грибы помимо синтеза микотоксинов, играют важную роль в возникновении патологий медоносных пчел. Предотвращение и мониторинг этих процессов по загрязнению окружающей среды – один из ключевых моментов в борьбе с микотоксикозами продуктов пчеловодства.

Список литературы

1. Врачесинская О.А., Каденцова В.М. Изменение обеспеченности витаминами населения России: тенденции последнего десятилетия // Оптимальное питание - здоровые нации: материалы VII Всерос. Конгресса. - М., 2005, с.51-52.
2. Ayansova A.A. Fungal isolates from the Honey Samples Collected from Retail // Journal of Biology and Life Science, 2012, vol.3, No 1, p.189-199.
3. Методы экспериментальной микологии // под ред. Билай В.И. Киев Наукова думка, 1982, 500с.
4. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Сантин 2.3.2. 1078-01. М., 2002, 205 с.

ВЫДЕЛЕНИЕ ЭНДОФИТНЫХ ДРОЖЖЕЙ ИЗ ГЕНЕРАТИВНЫХ И ЗАПАСАЮЩИХ ЧАСТЕЙ РАСТЕНИЙ

Шодиева Д.Г., Абдульмянова Л.И., Гулямова Т.Г.
Институт микробиологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Все большее внимание начинает уделяться изучению эндофитных дрожжей, которые наряду с эндофитными бактериями и грибами бессимптомно обитают в различных частях растений [1]. На данный момент эндофитные дрожжи являются малоизученными объектами, что, вероятно, связано с трудностями их выделения. Однако, установлено, что эндофитные дрожжи имеют большое значение для физиологии, здоровья и защиты растений. Известно, что дрожжи предпочитают богатые углеводами генеративные (цветки, семена) и запасющие (плоды, клубни, корни) части растений. Запасая-

щие части – это органы или ткани растений, которые служат для запасания питательных веществ, энергии и воды, которые могут использоваться растением в периоды стресса, недостатка питания или для поддержания метаболической активности в условиях неблагоприятной среды [2]. Синтезируя биологически активные соединения, такие как гормоны роста и антибиотики дрожжи способствуют улучшению роста, развития и устойчивости растений к стрессовым условиям, а также защищают растения от патогенов [3].

В настоящей работе для выделения эндофитных дрожжей были отобраны свежие цветки вишни (*Prunus avium*), персика (*Prunus persica*), абрикоса (*Prunus Armeniaca*), грецкого ореха (*Jungales regia*), смородины (*Ribes aureum*), яблони (*Malus Domestica*), а также спелые плоды мандарина (*Citrus reticulata*), киви (*Actinidia deliciosa*), яблони (*Malus Domestica*), корнеплод свеклы (*Beta vulgaris*) (Рис.1).



Рис. 1. Цветки растений – источник эндофитных дрожжей

В работе применяли прямой метод выделения и метод накопительных культур. Исследуемые образцы измельчали в асептических условиях, используя для поверхностной стерилизации различные комбинации стерилизующих агентов (этанол 70%, NaOCl 3%) и время выдержки в них. Измельченные образцы вносили в чашки Петри с агаризованными средами и в колбы с жидкими накопительными питательными средами. Для культивиро-

вания использовали картофельно-декстрозный бульон, не охмелённое сусло и среду Сабуро с добавлением антибиотика – цефатаксим - в концентрации 200 мкг/мл для подавления бактериальной микрофлоры. Инкубацию проводили в течении 5-14 суток при температуре 28-30°C в термостатируемых условиях и на качалке при 180 об/мин.

После появления визуальных изменений накопительных культур (помутнение, газообразование) производили посев на чашки методом истощающего штриха. Выросшие на чашках дрожжеподобные колонии микроскопировали и отсевали для хранения на косячки с той же средой, но без антибиотика.

В результате исследований установлено, что свежие цветки растений являются более предпочтительным источником выделения эндофитных дрожжей, чем спелые плоды, после хранения. Исключение составляет плоды яблони. В плодах киви и мандарина эндофитные дрожжи не обнаружены. Вероятно, на содержание эндофитной микрофлоры данных плодов влияет и повышенное содержание аскорбиновой кислоты.

Из плодов яблони, цветков вишни и смородины выделено 4 характерных эндофитных дрожжевых изолята. Морфологическая макро – и микро характеристика штаммов представлена в таблице 1.

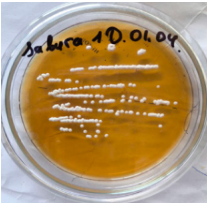
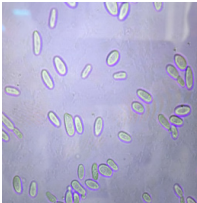
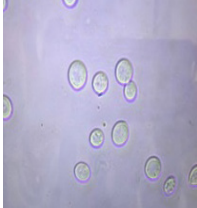
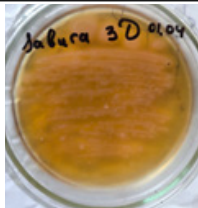
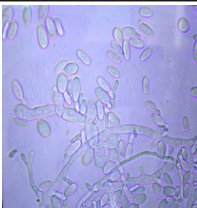
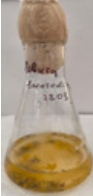
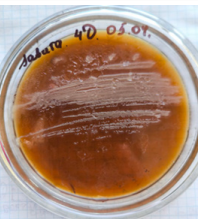
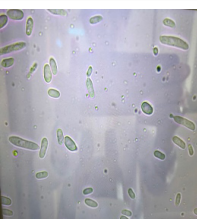
Представленные культуры отобраны для дальнейшего изучения биоактивных свойств и идентификации.

Список литературы

1. Isaeva O. V. et al. Endophytic yeast fungi in plant storage tissues Biology bulletin. 2010; 37: 26-34.

2. Kachalkin A., Glushakova A., Streletskii R. Diversity of endophytic yeasts from agricultural fruits positive for phytohormone IAA production. BioTech. 2022; 11 (3): 38.

3. Bhuyan B. et al. Isolation of yeast endophytes from healthy seeds of Capsicum annuum L. and assessment of their antimicrobial activity. Journal of Applied Biology and Biotechnology. – 2023; 11: 111-116.

Табл. 1. Эндофитные дрожжевые изоляты генеративных и запасающих частей растений		
Malus Domestica		
		
	Эндофитный дрожжевой изолят 1D, выделен из плода яблони. Диаметр колонии на 3 сутки роста составляет 0,5-1 мм. Цвет колоний белый, форма – округлая, выпуклая, с ровным краем, консистенция - мазеобразная. Реверзум – розовый. Клетки вытянутой овальной формы, размером 5 - 7 мкм, одиночные, не образующие мицелий.	
		
	Эндофитный дрожжевой изолят 2D, выделен из плода яблони. Диаметр колонии на 3 сутки роста составляет 0,3-0,5 мм. Цвет колоний - бледно-желтый, форма округлая, выпуклая с ровным краем, консистенция – кремообразная. Реверзум – желтый. Клетки круглой формы, размером 6 -7 мкм, одиночные, не образующие мицелий.	
Prunus avium		
		
	Эндофитный дрожжевой изолят 3D, выделен из цветка вишни. Диаметр колонии на 3 сутки роста 0,3-0,5 мм. Цвет колоний – светло- розовый, форма – округлая с неровным краем, плоская, консистенция – кремообразная. Реверзум-розовый. Клетки вытянутой овальной формы, размером 5 - 7 мкм, одиночные, образующие псевдомицелий.	
Ribes aureum		
		
	Эндофитный дрожжевой изолят 4D, выделен из цветка смородины. Диаметр колонии на 3 сутки роста 0,2-0,3 мм, Цвет колоний грязно-розовый, форма - округлая, выпуклая с ровным краем, консистенция – кремообразная. Реверзум - розовый. Клетки сильно вытянутой овальной формы, размером 4 - 6 мкм, одиночные, не образующие мицелий.	

ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫЕ СВОЙСТВА ШТАММА *TOLYPOCLADIUM INFLATUM* 19D-O

Скачкова А.Д., Козлов А.В.

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

Введение. Микровицеты вида *Tolypocladium inflatum* (анаморфная стадия энтомопатогенного гриба *Cordyceps subsessilis*) имеют повсеместное распространение и известны как активные продуценты важного в фармацевтическом направлении иммунодепрессанта – циклоспорина а. Среди метаболитов этого гриба известно также около 5-ти типов эфrapeптин, обладающих бактерицидными, фунгицидными и инсектицидными свойствами (Yang et al., 2018; Jalgaonwala et al., 2017; Liu et al., 2021). Целью данного исследования явилась оценка некоторых свойств штамма, которые делают возможным рассмотрение его в качестве агента для получения биопестицида.

Материалы и методы. Выделение штамма осуществляли методом приманки на гусениц большой восковой моли *Galleria mellonella* (Senthilkumar et al., 2021) из почвы, отобранной в г. Балашиха (Московская область) в сосновом бору (озеро Мазуринское). Родовую принадлежность микровицеты определяли по морфологии роста мицелия и методом микроскопии. Видовую идентификацию производили с использованием секвенирования internal transcribed spacer (ITS)-региона.

Амилазная, протеолитическая и липолитическая активность проверялась методом посева штамма на классические питательные среды. Продукцию аммония определяли после добавления реактива Несслера на 7-е сутки культивирования штамма в пептонной воде, по окрашиванию среды в желто-коричневый цвет. Фосфатмобилизующая способность определялась на среде Пиковской, где единственным источником фосфата являлась нерастворимая соль $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (5 г/л). О наличии способности судили по образованию прозрачных зон вокруг блока гриба (Дудка И.А., 1982). Для изучения целлюлозолитической активности штаммов использовали модифицированную среду Чапека-Докса с добавлением 5 г/л Na-KMЦ. О наличии способности продуцировать целлюлозолитические ферменты свидетельствовало наличие зоны просветления на среде, окрашенной Конго красным после 10 суток культивирования. Антифунгальные свойства штамма изучали методом встречных культур (Almeida et al., 2007), бактерицидную активность – методом мицелиальных блоков (Дудка, 1982).

Результаты и обсуждение. Анализ полученных данных показал, что штамм *T. inflatum* 19D-O обладал достаточно высокой липолитической (рис. 1А) и протеолитической активностью (рис. 1В). Амилолитической активности на питательной среде с крахмалом выявлено не было (рис. 1Б). На среде Пиковской на 10-е сутки инкубирования была видна зона разложения фосфатов диаметром 4 мм, что свидетельствует о наличии фосфатмобилизующих свойств (рис. 1Д). Штамм обладал способностью продуцировать аммоний. Так же у штамма была выявлена целлюлозолитическая активность (зона просветления вокруг мицелия после окрашивания среды Конго красным составила 3,6 мм) (рис. 1Г).

Антифунгальные свойства штамма были оценены в отношении 22-х видов фитопатогенных грибов, выделенных из различных групп сельскохозяйственных культур, а также из пораженных частей хвойных деревьев. Индекс ингибирования роста мицелия патогена был высоким (более 51%) у следующих тест-культур: *Alternaria solani* 473 (лист картофеля), *Cercospora beticola*

БКМФ-3192 (лист сои), *Colletotrichum* sp., *Colletotrichum pyricola* (платикладия туи), *Drechslera teres* (лист ячменя), *Gaeumannomyces caricis* БКМФ-2511 (лист осоки), *Macrophomina phaseolina* 1 (корнеплод сахарной свеклы), *Pestalotiopsis funereal* X-001 (платикладия туи), *Phoma betae* (лист сахарной свеклы), *Sclerotinia sclerotiorum* (соя, склероций), *Zymoseptoria tritici* 3 (лист озимой пшеницы), *Ascochyta rabiei* (лист нута), *Gibellina cerealis* MF-C22701 (стебель пшеницы). В средней степени (от 50% до 41,9%) чувствительны были *Botrytis cinerea* 4 (ягода голубики), *Fusarium oxysporum* 96801 (зерно пшеницы), *F. culmorum* 63 (колос ржи), *F. graminearum* MFG 58918 (колос пшеницы), *Microdochium nivale* (почва), *Phomopsis juniperivora* (ветвь туи), *Rhizoctonia solani* 170 (почва), *Colletotrichum coccoides* 1 (клубень картофеля), *Phytophthora infestans* 40 (лист картофеля).

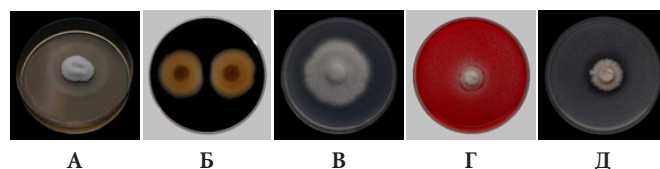


Рис. 1. Свойства штамма *T. inflatum* 19D-O: А – липолитическая активность, Б – амилолитическая активность, В – протеолитическая активность, Г – целлюлолитическая активность на среде с Na-KMЦ, Д – фосфатмобилизация.

В работе также был рассмотрен вопрос взаимоотношения чистых культур *Trichoderma* spp.: *Tr. harzianum* БКМФ-4099D, *Tr. asperellum* (Биоин-ново, Москва), *Tr. atroviride* SC1 (препарат Vintecbiba, Бельгия) со штаммом *T. inflatum* 19D-O. Была выявлена высокая чувствительность триходерм к штамму-антагонисту: подавление роста составило в среднем 47 %. При этом, отмечено взаимоподавление роста в виде торможения роста мицелия в месте касания.

Чувствительность к штамму была выявлена у бактерий *Xanthomonas arboricola* 614 (сосудистый бактериоз лещины), *X. vasicola* 618 (сосудистый бактериоз бухарника), *Pseudomonas syringae* (возбудитель корневых гнилей, листовых пятнистостей сои), *Pectobacterium carotovorum* pv. *carotovora* 480 (мокрая гниль томата), *P. syringae* pv. *tomato* 102 (черная пятнистость томата).

Из результатов, полученных в данной серии опытов, можно заключить, что штамм *T. inflatum* 19D-O обладает рядом хозяйственно-ценных свойств, высокой фунгицидной активностью, бактерицидными свойствами в отношении некоторых значимых фитопатогенных бактерий, что делает его перспективным, для рассмотрения в качестве агента для получения биопестицида. Изучение антагонистических свойств штамма с *Trichoderma* spp. *in vitro* показало несовместимость видов, а поведение микровицетов в почве требует дальнейшего изучения.

Список литературы

- Yang X., Feng P., Yin Y., Bushley K., Spatafora J., Wang C. Cyclosporine Biosynthesis in *Tolypocladium inflatum* Benefits Fungal Adaptation to the Environment. mBio. 2018. V. 9(5). e01211-18.
- Jalgaonwala R., Mohite B., Mahajan R. A review: Natural products from plant associated endophytic fungi. Journal of Microbiology and Biotechnology Research 1. 2017. P. 21-32.

3. Liu X., Cao A., Yan D., Ouyang C., Wang Q., Li Y. Overview of mechanisms and uses of biopesticides. *International Journal of Pest Management*. 2021. V. 67 (1). P. 65-72. Doi: 10.1080/09670874.1664789
4. Senthilkumar M., Amaresan N., Sankaranarayanan A. Galleria Bait Technique for the Isolation of Entomopathogenic Fungi from Soil. In: *Plant-Microbe Interactions*. Springer Protocols Handbooks. Humana, New York, NY. 2021. Doi: 10.1007/978-1-0716-1080-0_73
5. Almeida F.B., Cerqueira F.M., Silva Rdo, N. Ulhoa C., Lima A. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains

against *Rhizoctonia solani*: Evaluation of coiling and hydrolytic enzyme production. *Biotechnology Letters*. 2007. V. 29. P. 1189–1193.

6. Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А., Коваль Э.З., Горбик Е.Т., Никольская Е.Н. и др.. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. С. 552.

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МАКРОМИЦЕТОВ С ПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Цивилева О.М., Шатерников А.Н.

Институт физиологии и биохимии растений и микроорганизмов ФИЦ СНЦ РАН, Саратов

Развитие методологии повышения устойчивости культивируемых макромицетов к негативным воздействиям окружающей среды предполагает изучение роли защитных ферментов грибов при биотическом стрессе и получение новой информации об антиоксидантно-прооксидантном балансе у ксилотрофных базидиомицетов в условиях воздействия посторонней микрофлоры.

Изучение регуляции устойчивости макромицетов к патогенам бактериального происхождения включает такой аспект, как выявление роли оксидоредуктаз ксилотрофных базидиомицетов при действии бактериальных патогенов в условиях погруженного культивирования, субстратной специфичности и функций этих ферментов, а также компонентов пула внеклеточных метаболитов, связанных с защитными реакциями макромицетов. В комплексе ответных реакций базидиомицетов на инфицирование патогенами оксидоредуктазы грибов выполняют важные защитные функции [1]. В данной работе проведен анализ редокс-состояния базидиомицетов родов *Flammulina*, *Ganoderma*, *Laetiporus*, *Lentinula*, *Pleurotus* на уровне ферментных (пероксидаза, супероксиддисмутаза) и неферментных (уровень пероксидного окисления липидов, общие фенолы, пероксид водорода) компонентов системы антиоксидантной защиты при инфицировании культур базидиомицетов бактериями рода *Micrococcus* и *Pectobacterium*.

Анализ редокс-состояния базидиомицетов при инфицировании патогенами *Micrococcus* и *Pectobacterium* на уровне неферментных компонентов системы антиоксидантной защиты показал, что концентрация малонового диальдегида (МДА) увеличивалась во всех вариантах опыта с инфицированием базидиомицетов, примерно до 120-190% к контролю в смешанных культурах с *M. luteus*, чуть менее - с *P. carotovorum*. Исключение составила культура *L. sulphureus*, на состояние пероксидного окисления липидов которой бактерии *M. luteus* оказали наименее выраженное отрицательное действие. При объединении грибных культур с *P. atrosepticum* концентрация МДА увеличивалась до 145-160% к контролю. Концентрация фенольных соединений увеличивалась во всех вариантах опыта с инфицированием базидиомицетов, примерно до 170-200% к контролю в смешанных культурах с *P. carotovorum*, чуть менее - с *M. luteus*, и до 125-160% к контролю при объединении грибных культур с *P. atrosepticum*. Концентра-

ция P_2O_2 была выше через 7 сут с момента образования двойных бактериально-грибных культур по сравнению с периодом завершения (30 сут) каждого варианта опыта. Уровень P_2O_2 варьировал в гораздо более широком диапазоне значений по сравнению с другими компонентами неферментного звена системы антиоксидантной защиты, в особенности в зависимости от грибного биообъекта. Величины концентрации P_2O_2 находились в пределах 70-140% к контролю в смешанных культурах с бактериями, при этом *G. lucidum* и *F. velutipes* характеризовались уровнем P_2O_2 на нижней границе указанного интервала.

Изучали влияние инфицирования базидиомицетов патогенами *Micrococcus* и *Pectobacterium* на характеристики внеклеточных ферментных систем погруженных культур. Активность супероксиддисмутазы (СОД), важнейшего антиоксидантного фермента, связана с уровнем генерации супероксидного анион-радикала как наиболее быстрообразующейся активной формы кислорода. Активность СОД возрастала в большинстве случаев к 14-ти сут с момента образования двойных бактериально-грибных культур по сравнению с началом (3 сут) каждого варианта опыта. Существенное снижение активности СОД в этом временном интервале имело место только в системах «*L. sulphureus*+*M. luteus*» и «*L. edodes*+*P. atrosepticum*». Величины удельной активности СОД макромицетов *G. lucidum*, *L. edodes* и в меньшей степени *P. ostreatus* во всех системах с бактериальными патогенами возрастали наиболее значительно, до 10 раз в погруженной культуре «*G. lucidum*+*P. atrosepticum*». Сравнение результатов измерения пероксидазной активности в многочисленных вариантах опыта было направлено на выявление оптимального субстрата, в качестве которого тестировали 2,7-диаминофлуорен (DAF) [2]; орто-дианизидин, 2,2'-азино-бис(3-этилбензтиазолин-6-сульфонат), бензидин.

Анализ пула внеклеточных низкомолекулярных метаболитов на начальных этапах функционирования системы «макромицет-патоген» показал, что повышенный, в сравнении с неинфицированными монокультурами, уровень выявленных в бактериально-грибных культурах соединений фенольной природы, многие из которых могут являться антиоксидантами, ингибирует внеклеточные пероксидазы. Это сопровождается увеличением уровня пероксидного окисления липидов. Некоторое увеличение активности СОД, по-видимому,

недостаточно для стабилизации состояния системы антиоксидантной защиты мицелия. Величины активности пероксидазы, определенные по реакции каталитического окисления DAF, относили к активности при возрасте грибной монокультуры 7 сут (контроль). На завершающем этапе вариантов опыта с инфицированием базидиомицетов бактериями активность внеклеточных пероксидаз существенно повышается, снижается удельная концентрация МДА. Защитные реакции ксилотрофных базидиомицетов на инфицирование бактериальными патогенами родов *Micrococcus* и *Pectobacterium* регулируются изменениями активности внеклеточных пероксидаз, специфичных в наибольшей степени к DAF, в меньшей степени – к орто-дианизидину.

Детектировали химические соединения – компоненты пула внеклеточных метаболитов, продуцируемых в культурах ксилотрофных базидиомицетов при инфицировании бактериальными патогенами. Применяли различные хроматографические методы. ВЭЖХ-идентификация компонентов смесей низкомолекулярных метаболитов высших грибов и их бинарных культур с бактериальными патогенами позволила выявить следующие соединения (таблица 1).

Табл. 1. Соединения, детектируемые методом ВЭЖХ в монокультурах базидиомицетов (1, 5, 9, 13) и при их инфицировании бактериальными патогенами *Micrococcus luteus* (2, 6, 10, 14), *Pectobacterium atrosepticum* (3, 7, 11, 15), *Pectobacterium carotovorum* (4, 8, 12, 16)

Описание	№	Детектируемые соединения, отн. кол-ва					
		Тримитин	D,L-триптофан	Тирозол	2-Индоллин	Триптофол	Индол
<i>Flammulina velutipes</i> 0535	1	11,03	10,73	0,03	–	–	–
	2	16,51	5,14	2,29	1,27	–	0,52
	3	22,37	9,45	3,16	–	0,24	–
	4	27,02	10,80	3,25	0,33	–	–
<i>Ganoderma lucidum</i> 1315	5	3,86	14,50	1,28	–	–	–
	6	32,82	16,32	0,02	2,18	–	1,06
	7	40,23	14,19	1,80	–	1,14	–
	8	42,16	19,99	1,84	0,56	–	–
<i>Lentinula edodes</i> F-249	9	5,86	15,51	1,64	–	–	–
	10	23,20	15,70	1,23	0,63	–	–
	11	26,29	17,25	1,08	–	0,07	–
	12	33,84	13,21	1,41	–	–	–
<i>Pleurotus ostreatus</i> 69	13	5,24	13,52	–	–	–	–
	14	13,16	5,75	1,94	2,08	–	0,73
	15	21,55	14,58	3,15	–	0,16	–
	16	32,75	15,50	4,13	1,07	–	–

Продукт восстановления по карбоксильной группе пара-гидроксифенилуксусной кислоты, п-гидроксизтилфенол (тирозол), детектируется в монокультурах грибов, при этом в заметных количествах только у *L. edodes*, на пределе обнаружения – у *F. velutipes* и *G. lucidum*. В вариантах опыта с инфицированием патогенами накопление тирозола в среде культивирования происходило с увеличением его уровня на порядок и более (таблица 1) в сравнении с монокультурой гриба. Этот фенольный спирт не проявляет заметных антиоксидантных свойств, не препятствует образованию активных форм кислорода при избытке фенолов и может выступать в роли ауторегулятора.

В качестве биохимического отклика грибной культуры на присутствие бактериальных фитопатогенов в среде выращивания выявлены фенол, фураноны, производное фуранкарбоновой кислоты, пираноны и пирандион, а также жирные кислоты и их эфиры. Разноплановый терапевтический потенциал 3-гидрок-

си-4-пиранонов и родственных соединений, в том числе аналогов койевой кислоты, не вызывает сомнений [3]. Молекула койевой кислоты, ценного природного продукта, содержит 3-гидрокси-4-пираноновый скаффолд. Этот полифункциональный гетероцикл – перспективный интермедиат для дизайна и синтеза соединений, производных койевой кислоты с выраженной антибактериальной, противогрибковой, другими видами биоактивности [4].

Содержание жирных кислот разных химических групп зависело от условий эксперимента. В опытах без инфицирования базидиомицетов патогенами в экстрактах культуральных жидкостей доминировали 9,12-октадекадиеновая (линолевая), гексадекановая (пальмитиновая) и 9-октадеценновая (олеиновая) кислоты. Массовая доля этих трех соединений находилась в пределах от 67% до 93%. Короткоцепочечные и жирные кислоты с очень длинными цепями не являлись преобладающими фракциями свободных жирных кислот в этих экспериментах. При инфицировании бактериальными патогенами разнообразие жирных кислот и их эфиров в культуральной жидкости существенно возрастало. Детектировалась тетрадекановая (миристиновая), пентадекановая, 9-гексадеценновая, цис-10-гептадеценновая, гептадекановая (маргариновая), октадекановая (стеариновая), цис-13-эйкозеновая (C20H38O2) кислоты, их этиловые и другие сложные эфиры.

Результаты анализа жирных кислот в условиях погруженного культивирования в присутствии бактериальных патогенов свидетельствовали о более высоком уровне насыщенных кислот по сравнению с ненасыщенными. Высокая степень насыщенности общих внеклеточных липидов была характерна для *F. velutipes*, содержащей около 53% их в форме C16:0, C18:0, C14:0. Несколько более высокие относительные количества ненасыщенной линолевой кислоты, около 27%, были детектированы в *G. lucidum* при действии *M. luteus*. Минимальный в нашем эксперименте уровень C18:1 (около 13% от суммы жирных кислот) оказался в среде культивирования *L. edodes* с *P. carotovorum*.

Длинноцепочечные жирные кислоты (то есть содержащие 16-19 атомов углерода в молекуле) детектировали для всех штаммов базидиомицетов. Они были представлены (в порядке снижения уровня кислоты) линолевой, пальмитиновой, олеиновой, стеариновой кислотами. Присутствовала также гептадекановая кислота C17:0, информация о которой свидетельствует о значительной ингибирующей активности в отношении некоторых клеток [5], опережающей в этом плане окта- (C18:0) и гексадекановую кислоты (C16:0).

Исследования стрессовых метаболитов грибов при адаптации к биотическим внешним факторам могут расширить представления о процессах роста, развития и межорганизменных взаимодействий с патогенами, имеют практическое значение для предотвращения контаминации конкурентной микрофлорой при искусственном выращивании макромицетов.

Список литературы

1. Mattila H., Österman-Udd J., Mali T., Lundell T. Basidiomycota fungi and ROS: genomic perspective on key enzymes involved in generation and mitigation of reactive oxygen species . Frontiers in Fungal Biology 2022, 3, 837605.
2. Pozdnyakova N.N., Varese G.C., Prigione V., Dubrovskaya E.V., Balandina S.A., Turkovskaya O.V. Degradative properties of two newly isolated strains of the ascomycetes *Fusarium oxysporum* and *Lecanicillium aphanocladii* . International Microbiology 2019, 22, 103-110.

3. Emami S., Ahmadi R., Ahadi H., Ashooriha M. Diverse therapeutic potential of 3-hydroxy-4-pyranones and related compounds as kojic acid analogs . Medicinal Chemistry Research 2022, 31(11), 1842-1861.
4. Saeedi M., Eslamifar M., Khezri K. Kojic acid applications in cosmetic and pharmaceutical preparations . Biomedicine & Pharmacotherapy 2019, 110, 582-593.

5. Fukuzawa M., Yamaguchi R., Hide I., Chen Z., Hirai Y., Sugimoto A., Yasuhara T., Nakata Y. Possible involvement of long chain fatty acids in the spores of *Ganoderma lucidum* (Reishi Houshi) to its anti-tumor activity . Biological and Pharmaceutical Bulletin 2008, 31(10), 1933-1937.

КОЛЛЕКЦИЯ ГРИБОВ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ: ПРОБЛЕМЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ И КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Юрков А.П., Крюков А.А., Горбунова А.О.
ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин

Грибы класса *Glomeromycetes* (единственный класс филума *Glomeromycota*) образуют один из самых распространенных симбиозов с наземными растениями – арбускулярную микоризу (АМ). Этот симбиоз формируют более 80% видов растений. Они встречаются повсеместно от зоны тундры до тропических лесов и во всех высотных поясах вплоть до нивальной зоны. Роль грибов АМ в природных экосистемах трудно переоценить. По последним данным эти грибы могут играть роль в условиях восстановительной сукцессии. Известно, что грибы АМ способствуют усилению минерального, в первую очередь фосфорного, питания растений, а также их адаптации к стресс-факторам среды биотической и абиотической природы. Целью настоящей работы является создание первой в России коллекции грибов арбускулярной микоризы, охарактеризованной по признакам симбиотической эффективности и активности грибов в корнях растений-хозяев. Основными проблемами на пути решения задачи создания коллекции являются: 1) сложность культивирования грибов АМ – поддержания в течение длительного периода времени в силу облигатного характера роста, невозможности поддержания культур грибов АМ на искусственных средах; 2) сложность видовой идентификации грибов АМ в силу наличия высокого генетического полиморфизма и недостаточно разработанной системы идентификации грибов АМ. Решение первой проблемы связано с необходимостью поддержания грибов АМ на культуре тканей корня (“root organ culture”). В этом случае возможно получение фертильных спор, но их симбиотическая эффективность может оказаться нестабильной характеристикой при длительном хранении. Сходная проблема возникает и при заморозке спор грибов АМ при различных температурах. Возможно, причиной этому является наличие облигатных эндосимбионтов бактериальной природы у самих грибов АМ, что необходимо детально изучить. С другой стороны, в решении второй проблемы, связанной с идентификацией АМ-грибов, были получены определенные успехи.

Предпосылками к созданию коллекции грибов АМ в России является: 1) селекция растительно-микробных систем с участием грибов АМ на повышение симбиотической эффективности (получена высокоотзывчивая на микоризацию линия *MLS-1 Medicago lupulina* и проведена оценка влияния микоризации на транскриптом растения-хозяина с оценкой >4000 генов с дифференциальной экспрессией; [1]), наличие модельной системы для тестирования симбиотической эффективности

АМ-грибов [1-2]; 2) наличие ряда изолятов АМ-грибов различного происхождения (ВНИИСХМ); 3) наличие научного задела по способам получения спор и спорокарпов, по способам оптимизации процедур молекулярно-генетической [3-4] и морфологической идентификации АМ-грибов [5]. Для решения проблем проведен сбор изолятов грибов АМ из различных регионов России, в том числе из различных экосистем Северного Кавказа. Впервые проведена молекулярно-генетическая идентификация грибов АМ в экосистемах долин рек, лесов и субальпийских лугов Карачаево-Черкессии [6]. Точно идентифицировано 50 видов грибов АМ. Выявлен центр биоразнообразия грибов АМ в долине реки Теберда на территории Тебердинского национального парка. Результаты анализа показали, что наиболее распространенными по числу операционных таксономических единиц (ОТЕ) оказались рода *Rhizophagus*, *Glomus* и *Dominikia*, включающие более половины выявленных ОТЕ (Таблица 1). Следует отметить, что более $\frac{3}{4}$ коллекционных изолятов приходится также на рода *Rhizophagus* и *Glomus* (Таблица 1). Линейный коэффициент корреляции между долей ОТЕ по ITS1 и ITS2 составляет 0,88 (достоверная взаимосвязь при $P < 0.05$), между долей ОТЕ по ITS1 и долей штаммов – 0,81 (достоверная взаимосвязь при $P < 0.05$), между долей ОТЕ по ITS1 и долей штаммов – 0,48 (связь не достоверна).

Интересным наблюдением является тот факт, что доля ОТЕ уровня вида (точная видовая идентификация по ITS1 и ITS2) при суммировании по родам показала несколько иное распределение (Таблица 2), что сказалось на корреляционных взаимосвязях. Так, линейный коэффициент корреляции между долей ОТЕ по ITS1 и ITS2 составляет 0,77 (достоверная взаимосвязь при $P < 0.05$), между долей ОТЕ по ITS1 и долей штаммов – 0,72 (достоверная взаимосвязь при $P < 0.05$), между долей ОТЕ по ITS1 и долей штаммов – 0,78 (достоверная взаимосвязь при $P < 0.05$). Тем не менее, даже при таком высоком уровне взаимосвязей можно видеть, что идентификация по регионам ITS1 и ITS2 различается для значительного числа родов (в частности для родов *Cetranspora*, *Entrophospora*, *Otospora*, *Palaeospora*, *Rhizoglomus*, *Scutellospora* и *Septoglomus*; Таблица 2). Виды этих 7 родов идентифицируются лишь по одному из регионов баркодирования. Таким образом, можно заключить, что морфологическая и молекулярно-генетическая идентификация должны применяться в сопряжении друг с другом для характеристики коллекционных изолятов/штаммов грибов АМ.

Табл. 1. Доля идентифицированных родов (по всем ОТЕ уровня рода) в естественных экосистемах и выделенных в коллекцию.

Род гриба	Доля ОТЕ по ITS1*, %	Доля ОТЕ по ITS2*, %	Число штаммов в коллекции**	Доля штаммов в коллекции**, %
Acaulospora	7,3	7,0	1	1,8
Ambispora	2,4	1,8		
Archaeospora	3,5	7,7		
Cetraspora	0,0	0,4		
Claroideoglomus	7,7	8,4	1	1,8
Diversispora	5,6	0,7		
Dominikia	16,0	20,5	1	1,8
Entrophospora	0,0	8,8		
Funnelformis	2,8	3,3	3	5,5
Glomus	10,5	9,9	14	25,5
Halonatospora	0,3	0,4		
Microdominikia	0,0	3,3		
Microkamienskia	0,0	1,1		
Otospora	1,0	0,0		
Palaeospora	0,7	0,0		
Paraglomus	8,0	5,5	3	5,5
Rhizoglomus	0,0	1,1		
Rhizophagus	27,5	18,7	30	54,5
Sclerocystis	0,0	0,0	2	3,6
Scutellospora	0,7	1,5		
Septoglomus	5,9	0,0		

Примечание: * – доли ОТЕ уровня рода по результатам молекулярно-генетического анализа соответствующего региона баркодирования, представлено согласно [5] по результатам анализа естественных экосистем; ** – представлены сведения по результатам идентификации по морфологии спор, рода коллекционных изолятов на основании данных о предположительном виде АМ-грибов.

Табл. 2. Доля идентифицированных родов (только по ОТЕ уровня вида) в естественных экосистемах.

Род гриба	Доля ОТЕ по ITS1*, %	Доля ОТЕ по ITS2*, %
Acaulospora	7,9	12,4
Ambispora	3,3	3,3
Archaeospora	0,9	5,2
Cetraspora	0,0	0,7
Claroideoglomus	9,3	11,1
Diversispora	4,2	1,3
Dominikia	15,4	4,6
Entrophospora	0,0	4,6
Funnelformis	3,7	5,9
Glomus	12,6	3,9
Halonatospora	0,5	0,7
Microdominikia	0,0	0,0
Microkamienskia	0,0	0,0
Otospora	1,4	0,0
Palaeospora	0,9	0,0
Paraglomus	10,7	9,8
Rhizoglomus	0,0	2,0
Rhizophagus	22,4	33,3
Sclerocystis	0,0	0,0
Scutellospora	0,0	1,3
Septoglomus	6,5	0,0

Примечание: * – доли ОТЕ уровня вида, суммированные для родов по результатам молекулярно-генетического анализа соответствующего региона баркодирования, представлено согласно [5] по результатам анализа естественных экосистем.

Работы выполнены при поддержке гранта РНФ 22-16-00064, гранта Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2022-320 от 20.04.2022) для поддержки развития НЦМУ “Агротехнологии будущего” и при поддержке Министерства образования и науки РФ (шифр темы государственного задания: FGEW-2024-0009). Исследование проводилось с использованием оборудования Ресурсного центра “Геномные технологии, протеомика и клеточная биология” во ВНИИСХМ.

Список литературы

1. Yurkov A.P., Afonin A.M., Kryukov A.A., Gorbunova A.O., Kudryashova T.R., Kovalchuk A.I., et al. The effects of Rhizophagus irregularis inoculation on transcriptome of Medicago lupulina leaves at early vegetative and flowering stages of plant development. Plants 2023, 12, 3580. DOI: 10.3390/plants12203580.

2. Юрков А.П. Патент №2776652 от 22.07.2022 на изобретение «Способ оценки качества биопрепаратов на основе грибов арбускулярной микоризы» (заявка рег.№ 2021136951 от 14.12.2021). Бюл. № 21–2022, 21.07.2022–27.07.2022. – Москва: ФИПС. 2 с.

3. Юрков А.П., Крюков А.А., Горбунова А.О., Кожемяков А.П., Степанова Г.В., Мачс Э.М. и соавт. Молекулярно-генетическая идентификация грибов арбускулярной микоризы // Экологическая генетика. 2018. Т. 16. № 2. С. 11–23. DOI: 10.17816/ecogen16211-23.

4. Крюков А.А., Юрков А.П. Оптимизация процедуры молекулярно-генетической идентификации грибов арбускулярной микоризы в симбиотическую фазу на примере двух близкородственных штаммов. // Микология и фитопатология. 2018. Т.52. Вып.1. С. 38-48.

5. Kryukov A.A., Gorbunova A.O., Machs E.M., Mikhaylova Y.V., Rodionov A.V., Zhurbenko P.M. et al. Perspectives of using Illumina MiSeq for identification of arbuscular mycorrhizal fungi. // Vavilovskii Zhurnal Genet Selektcii. 2020. 24(2):158-167. doi: 10.18699/VJ19.38-o.

6. Yurkov A., Kryukov A., Gorbunova A., Kudriashova T., Kovalchuk A., Gorenkova A. et al. The biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in some ecosystems of the North Caucasus temperate hotspot. // J. Fungi 2024. 10(1), 11. DOI:10.3390/jof10010011.

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Current Mycology in Russia

Том 10

Выпуск 4.

**Сельскохозяйственная
микология**

Глава 7.

Фитопатогенные грибы

doi: 10.14427/cmr.2024.x.07

Глава 8.

**Защита растений, фунгициды
и биопестициды**

doi: 10.14427/cmr.2024.x.08

Volume 10

Issue 4.

**Fungal problems
in agriculture**

Chapter 7.

Phytopathogenic fungi

doi: 10.14427/cmr.2024.x.07

Chapter 8.

**Fungal disease and crop
protection. Fungicides** doi:

10.14427/cmr.2024.x.08

Содержание выпуска 4

Глава 7. Фитопатогенные грибы

ПРИОРИТЕТНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ	
Левитин М.М.	230
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ <i>CLADOSPORIUM LIMONIFORME</i>	
АССОЦИИРОВАННОГО С ПОСЛЕУБОРОЧНОЙ	
ПЛОДОВОЙ ГНИЛЬЮ ПЕРСИКА В УЗБЕКИСТАНЕ	
Адилов Б.Ш., Шеримбетов А.Г., Рузметов Д.Р., Усманов И.А.	231
АНТРАКНОЗ НА ВИНОГРАДНИКАХ КРЫМА – ЭТИОЛОГИЯ, КОНТРОЛЬ РАЗВИТИЯ	
Алейникова Н.В., Галкина Е.С., Болотянская Е.А., Аршава Н.В.	232
ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВОГО СОСТАВА ОБЩЕЙ И ПАТОГЕННОЙ МИКОБИОТЫ НЕКОТОРЫХ ПЛОДОВЫХ РАСТЕНИЙ, ВЫРАЩИВАЕМЫХ В АЗЕРБАЙДЖАНЕ	
Бахшалиева К.Ф., Арабова Г.Г., Мурадов П.З., Исгендер Э.О.	234
ВОЗБУДИТЕЛЬ АЛЬТЕРНАРИОЗА РАПСА И ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АНТАГОНИСТЫ	
Бакановская, К. Д., Поликсенова В.Д.	235
АНАЛИЗ ВИРУЛЕНТНОСТИ ПОВОЛЖСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ	
<i>PUCCINIA GRAMINIS</i> F. SP. <i>TRITICI</i> 2022-2023 ГГ.	
Баранова О.А., Сибикеев С.Н., Конькова Э.А.	236
ВЫЯВЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНЫХ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ ПРОТИВ	
РАС БУРОЙ РЖАВЧИНЫ ПШЕНИЦЫ В ЦЕНТРАЛЬНОМ РЕГИОНЕ РОССИИ	
Белякова С.Ю., Коломиец Т.М., Киселева М.И., Жемчужина Н.С.	238
МИКРОБИОМ ГРИБОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РАСТЕНИЯМИ	
Чудинова Е.М., Платонов В.А., Еланский С.Н., ...	239
ВИДЫ РОДА <i>FUSARIUM</i> НА КЛУБНЯХ КАРТОФЕЛЯ И ПЛОДАХ ТОМАТА В РОССИИ	
Еланский С.Н., Еланский А.С., Чудинова Е.М., Скоков Д.Н.,	
Цинделиани А.А., Белосохов А.Ф., Яремеева М.М.	240
РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ГРИБОВ <i>FUSARIUM</i>	
НА КУЛЬТУРЕ ПЕРЦА СЛАДКОГО (<i>CAPSIUM ANNUUM</i> L.)	
В УСЛОВИЯХ ЮЖНЫХ РЕГИОНОВ РОССИИ	
Енгальчева И.А., Козарь Е.Г., Чижик В.К., Шингалиев А.С.	241
ПАТОГЕННОСТЬ ГРИБОВ РОДА <i>FUSARIUM</i>	
К КЛУБНЯМ <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> L. РАЗНЫХ СОРТОВ	
Гаврилова О.П., Орина А.С., Трубин И.И., Гагкаева Т.Ю.	243
ВИДЫ <i>CERCOSPORA</i> , АССОЦИИРОВАННЫЕ С СОЕЙ	
Гомжина М.М., Гасич Е.Л., Ганнибал Ф.Б.	244
ПОДБОР ПИТАТЕЛЬНОЙ АГАРИЗОВАННОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ВОЗБУДИТЕЛЕЙ АНТРАКНОЗА И АСКОХИТОЗА ОГУРЦА ПОСЕВНОГО	
Горнак А.Ю., Федюшко И.А.	246
ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТАВА ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ УЗБЕКИСТАНА.	
Камилов Ш.Г., Авазов С.Э.	247
КОНТРОЛЬ ЗА ПОЯВЛЕНИЕМ ПИРИКУЛЯРИОЗА ПШЕНИЦЫ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ	
Коломиец Т.М., Панкратова Л.Ф.	252
МУЧНИСТОРОСЯНЫЕ ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ	
НА ТЕРРИТОРИИ ЗАКАЗНИКА «ЦНЯНСКИЙ»	
Кориняк С.И., Миркина Е.В., Андрухович А.К., Карачун В. А.	253
МОРФОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР	
НЕКОТОРЫХ ЧУЖЕРОДНЫХ ДЛЯ БЕЛАРУСИ АЛЬТЕРНАРИОИДНЫХ	
ГИФОМИЦЕТОВ В УСЛОВИЯХ АНТАГОНИЗМА	
Корзан И.В., Федюшко И.А.	255
БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ	
ИЗ ДРЕВЕСИНЫ ПОГИБШИХ ОТ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ЛИСТВЕННИЦ	
НОРИЛЬСКОГО ПРОМЫШЛЕННОГО РАЙОНА (НПР)	
Козлова М.В., Волков П. В., Камзолкина О.В.	256
ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ КОРНЕПЛОДОВ ЦИКОРИЯ	
Козырева А.М., Кокаева Л.Ю., Еланский С.Н.	258
ЛЕКТИНЫ В ДИАГНОСТИКЕ АСКОМИЦЕТНОГО ПАТОГЕНА,	
ВЫЗЫВАЮЩЕГО ПИЩЕВЫЕ ОТРАВЛЕНИЯ ЧЕЛОВЕКА: ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ МИЦЕЛИЯ <i>B. SOROKINIANA</i>	
Лахтин В.М., Лахтин М.В., Байракова А.Л., ...	259
Мелихова А.В., Давыдкин В.Ю.	259
РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВРЕДНОСНОЙ МИКОБИТЫ	
НА СОРТАХ ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ В ТАМБОВСКОЙ ОБЛАСТИ	
Лавринова В.А., Жидехина Т.В., Полунина Т.С.	260
ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ САЖИСТОЙ ПЯТНИСТОСТИ	
И МУХОСЕДА В ЯБЛОНЕВЫХ АГРОЦЕНОЗАХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ	
Марченко Л.О., Подгорная М.Е.	261
ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИТОВ И СУСПЕНЗИИ КЛЕТОК <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> F. SP. <i>LYCOPERSICI</i>	
НА АДВЕНТИВНОЕ КОРНЕОБРАЗОВАНИЕ У ТОМАТА	
Маслова М.В., Грошева Е.В., Шамшин И.Н.	263
ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ НА АБРИКОСАХ (<i>PRUNUS</i> L.)	
В НАМАНГАНСКОЙ ОБЛАСТИ, УЗБЕКИСТАН	
Мустафаев И.М., Иминова М.М., Журакулов Ж.Ж., Турабоев М.Б.	265

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА <i>FUSARIUM</i> ИЗ СУХОЙ ГНИЛИ КАРТОФЕЛЯ Николаева, А.А., Хворова С.А., Лутфуллин, М.Т., Вологин, С.Г., Марданова А.М.	266
КАЧЕСТВО ХРАНЕНИЯ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ КУЛЬТУР ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СЕПТОРИОЗА ПШЕНИЦЫ <i>P. NODORUM</i> И <i>Z. TRITICI</i> ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ -200С Пахолкова Е.В., Сальникова Н.Н.	269
К ВОПРОСУ О РАЗНООБРАЗИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ БОРИСОВСКОГО РАЙОНА МИНСКОЙ ОБЛАСТИ БЕЛАРУСИ Пенькевич А.В., Храмцов А.К.	270
РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ВИДОВ <i>ASPERGILLUS</i> В ОБЩЕЙ И СУБЭПИДЕРМАЛЬНОЙ МИКОБИОТЕ СЕМЯН ПОДСОЛНЕЧНИКА Пирязева Е.А., Зотова Е.В.	272
ФИТОСАНИТАРНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОСЕВОВ МНОГОЛЕТНИХ КОРМОВЫХ КУЛЬТУР НА ЕСТЕСТВЕННОМ И ИСКУССТВЕННЫХ ФОНАХ ЗАРАЖЕНИЯ Разгуляева Н.В., Костенко Н.Ю., Благовещенская Е.Ю.	274
ФИТОПАГЕННЫЕ ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ ПРОРОСТКОВ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ Шамин А.А., Стогниенко О.И.	275
РАЗНООБРАЗИЕ РОССИСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ <i>PUCCINIA STRIPFORMIS</i> НА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЕ ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ МАРКЕРАМ Шайдаюк Е.Л., Гульгяева Е.И.	277
ДИАГНОСТИКА <i>F. GRAMINEARUM</i> МЕТОДОМ ПЦР АМПЛИФИКАЦИИ IGS РЕГИОНА Шеримбетов А.Г.	279
ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ГРИБА <i>RODOSPHAERA XANTHII</i> – ВОЗБУДИТЕЛЯ НАСТОЯЩЕЙ МУЧНИСТОЙ РОСЫ НА КУЛЬТУРАХ СЕМЕЙСТВА <i>CUCURBITACEAE</i> Слетова М.Е., Коротцева И.Б., Каменева А.В., Чижик В.К., Белов С.Н.	280
ПРИМЕНЕНИЕ ГРИБОВ-АНТАГОНИСТОВ РОДА <i>PENICILLIUM</i> ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОЙ НАГРУЗКИ В ПОЧВЕ СВЕКЛОВИЧНОГО АГРОЦЕНОЗА Стогниенко О.И., Селиванова Г.А., Герр Е.С., Шамин А.А., Гаврилова М.Ю.	282
ДОПОЛНЕНИЕ К ПЕРЕЧНЮ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ СВЕТЛОГОРСКОГО РАЙОНА ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ БЕЛАРУСИ Свирид А.П., Храмцов А.К.	284
ОБ ОДНОМ НЕОБЫЧНОМ МУЧНИСТОРОСЯНОМ ГРИБЕ Тарасов К.Л.	285
ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА НА СКОРОСТЬ ЗАРАЖЕНИЯ IN VITRO СТОЛОВЫХ КОРНЕПЛОДОВ МОРКОВИ И СВЕКЛЫ РАЗНЫМИ ВИДАМИ СКЛЕРОЦИАЛЬНЫХ ГРИБОВ Тихонова Т.О., Козарь Е.Г., Енгальчева И.А., Степанов В.А., Ветрова С.А., Мухина К.С.	285
ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ <i>VITIS VINIFERA</i> В 10-15-ЛЕТНИХ НАСАЖДЕНИЯХ ВИНОГРАДНИКА УЗБЕКИСТАНА Тураева Б.И., Махкамов А.М.	287
ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ <i>FUSARIUM</i> - ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАЗАЛЬНОЙ ГНИЛИ ЛУКА РЕПЧАТОГО (<i>ALLIUMCEPA</i>) В ЦЕНТРАЛЬНОМ РЕГИОНЕ РФ Ветрова С.А., Алехина К.С., Енгальчева И.А., Чижик В.К., ...	288
ПРОБЛЕМА ГИБЕЛЛИНОЗА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ И МЕРЫ БОРЬБЫ С НИМ. Жалиев В.В., Жалиева Л.Д.	290
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАТОГЕННОСТИ И ФИТОТОКСИЧНОСТИ НОВЫХ ШТАММОВ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ ГОСУДАРСТВЕННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ФГБНУ ВНИИФ Жемчужина Н.С., Киселева М.И.	291
ЭНДОФИТНЫЕ ГРИБЫ ВИДА <i>FUSARIUM COMMUNE</i> , ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ТРЮФЕЛЕЙ Звонарев А.Н., Терентьев В.В., Антипова Т.В., Желифонова В.П., Баскунов Б.П., Качалкин А.В., Вайнштейн М.Б., *	293

Глава 8. Защита растений, фунгициды и биопестициды

БИОФУНГИЦИДЫ ПРОТИВ ФУЗАРИОЗА ТОМАТА Алексеева К.Л.	294
ПОИСК, ПОЛУЧЕНИЕ И ФУНГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНО- ЗАМЕЩЕННЫХ МОНОСАХАРИДОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НА ИХ ОСНОВЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ Белахов В.В., Бойкова И.В., Краснобаева И.Л., Антонова И.А., Колодязная В.А.	295
СКРИНИНГ ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ <i>PHLEBIOPSIS GIGANTEA</i> (FR.) JÜLICH., ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БОРЬБЫ С КОРНЕВОЙ ГУБКой Демченко С.И.	296
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЕТРИТНОЙ СУБСИДИИ КАК СПОСОБА УПРАВЛЕНИЯ МИКОБИОТОЙ ЧЕРНОЗЕМА В УСЛОВИЯХ ЗАРАЖЕНИЯ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ФУЗАРИОЗОМ Иванова Е.А., Ксенофонтова Н.А., Тхакахова А.К., Стахеев А.А., Карпова Д.В., Гончаров А.А.	298
ЭФФЕКТИВНАЯ ЗАЩИТА КАРТОФЕЛЯ ОТ АЛЬТЕРНАРИОЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФУНГИЦИДОВ Кузнецова М.А., Демидова В.Н., Рогожин А.Н., Сметанина Т.И., Уколова А.Ю., Семенюк И.Н.	299

СОЗДАНИЕ ФУНГИЦИДНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ НА ОСНОВЕ БАЦИЛЛЯРНЫХ ШТАММОВ ДЛЯ ОРГАНИЧЕСКОГО ЗЕМЛЕДЕЛИЯ	
Кузнецова Н.И.	301
ВЛИЯНИЕ ПРОТРАВИТЕЛЕЙ НА ПОЛЕВУЮ ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН И ПОРАЖЕННОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОРНЕВОЙ ГНИЛЬЮ ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ	
Массалимов И.А., Мустафакулов Ш.С., Ахметшин Б.С., Хусаинов А.Н., ...	303
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЗАЩИТНО-СТИМУЛИРУЮЩИХ СОСТАВОВ ДЛЯ ОБРАБОТКИ СЕМЯН ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ	
Мусина К.М., Кожабаяева Г.Е., Копирова Г.И.	306
АНТАГОНИСТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА <i>BACILLUS VALLISMORTIS</i> ПРОТИВ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ	
Нармухаммедова М.К., Хусанов Т.С., Жумаёров Ш.И., ...	307
ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ РОДА <i>BACILLUS</i> ПРОТИВ ПАРШИ ЯБЛОНИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ГРИБНЫЕ СООБЩЕСТВА ЧЕРНОЗЕМА ВЫЩЕЛОЧЕННОГО	
Пинчук И.П., Никитин Д.А., Томашевич Н.С., Гырнец Е.Ю., Сидоров Н.М., Тхакахова А.К., Ксенофонтова Н.А., Зверев А.О., Семенов М.В.	308
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕПРАТА БИОТРИХОДЕРМА, СП НА ЗЕМЛЯНИКЕ ПРИ ПОДАВЛЕНИИ СЕРОЙ ГНИЛИ	
Приходько Е.С. Смирнов А.Н.	310
ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И ФУНГИЦИДОВ НА РОСТ ГРИБОВ БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> И <i>F. NIRENBERGIAE</i>	
Трубин И.И., Гаврилова О.П., Орина А.С., Гагкаева Т.Ю.	311
ЭФФЕКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЙ РОДА <i>PSEUDOMONAS</i> И <i>BACILLUS</i> КАК АНТАГОНИСТОВ НЕКОТОРЫХ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ ПАСЛЕНА ТЕМНОПЛОДНОГО	
Вальчик К.А., Федюшко И.А.	313
ПРАКТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЧВЕННОГО ГРИБА <i>CLONOSTACHYS ROSEA</i> F <i>SATENULATA</i> V1349 В КАЧЕСТВЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ, А ТАКЖЕ ЕГО СРАВНЕНИЕ С ДРУГИМИ БИОПРЕПАРАТАМИ НА ОСНОВЕ <i>TRICHODERMA</i> SPP.	
Варфоломеева Е.А., Альдекеева В.Б.	314
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФУНГИЦИДОВ ДЛЯ ОСЕННЕЙ ОБРАБОТКИ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ	
Зейрук В.Н., Белов Г.Л., Еланский С.Н., ...	316

Глава 7

Фитопатогенные грибы

10.14427/cmr.2024.x.07

ПРИОРИТЕТНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Левитин М.М.

Российская Академия Наук

Современная фитопатология — это многоотраслевая наука, объединяющая знания по ботанике, микробиологии, растениеводству, экологии, физиологии, биохимии, генетике и молекулярной биологии. XX столетие ознаменовалось внедрением в фитопатологию самых разных методов и научных подходов в решении сугубо фитопатологических проблем. Первые 50 лет характеризовались в основном «феноменологическими» работами, в основе которых лежали микофлористические, физиологические, биохимические, иммунологические исследования и способы защиты растений. Следующие 25 лет – это бум исследований в области изучения механизмов взаимоотношений хозяина и паразита. Наконец последнее 25-летие и начало нынешнего столетия – внедрение в фитопатологию молекулярно-генетических методов и развитие на их основе новой фитопатологии – молекулярной [1]. Это общая ситуация в мировой фитопатологической науке.

Каковы сегодня актуальные проблемы фитопатологии?

Диагностика возбудителей болезней

Стандартная фитопатологическая диагностика — это прямое микрокопирование пораженных частей растений или выделение патогена в чистую культуру, а затем идентификация под микроскопом. Однако, за последние годы в методах диагностики грибов произошли существенные изменения. Это прежде всего связано с применением в таксономии методов молекулярной филогенетики.

В 1983 г. был разработан метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Этот метод позволяет синтезировать фрагменты ДНК, а затем многократно увеличивать число их копий. Матрицей для синтеза фрагментов служат синтезированные олигонуклеотиды – праймеры. В качестве праймеров часто используют участки генов с известными функциями. Амплифицированные участки ДНК разделяют электрофоретически и анализируют полученные паттерны. Метод ПЦР стал широко использоваться в микологических и фитопатологических исследованиях.

Наиболее эффективным для молекулярной филогенетики оказался метод секвенирования участков генома. В качестве широко применяемого видового маркера стали использовать нуклеотидную последовательность транскрибируемого спейсера (ITS2) ядерной рДНК как ДНК-штрих код. Возник полифазный подход, объединяющий морфологические, экологические и филогенетические данные [2].

Несомненно, количество новых молекулярных технологий будет быстро расти и совершенствоваться и фитопатоологам надо будет ими воспользоваться.

Геномика фитопатогенных грибов

В конце XX века начал интенсивно развиваться раздел генетики, посвященный изучению геномов живых

организмов. Это направление было названо геномикой. Цель геномных исследований сводится к выяснению последовательностей оснований в молекулах ДНК того или иного организма. Не обошло это направление и фитопатологию. Начали развиваться геномные проекты и на фитопатогенных грибах. В частности, интенсивным исследованиям подверглись виды *Fusarium verticillioides* и *Fusarium graminearum*. Были созданы генетические карты этих грибов. Идентифицировано большое количество локусов, среди которых гены, отвечающие за синтез микотоксинов.

Геномика включает клонирование генов и секвенирование геномов. В 1991 г. был впервые клонирован грибной ген авирулентности Avr9 из гриба *Cladosporium fulvum* – возбудитель оливковой плесени томатов. Эта работа открыла новую эру в изучении продуктов генов вирулентности у фитопатогенных грибов. Следующим был выделен и клонирован ген авирулентности Avr-4. Работы по клонированию генов позволили расшифровать первичные продукты генов и дать молекулярно-биохимическую интерпретацию взаимодействиям в системе «ген-на-ген».

Важным этапом геномных работ является секвенирование геномов. Проведен сиквенс генома у возбудителя пирикулярриоза риса – гриба *P. grisea*, возбудителя пузырчатой головни кукурузы – *Ustilago maydis*, возбудителя фузариоза колоса зерновых культур – *Fusarium graminearum* и *Fusarium verticillioides*. У гриба *U. maydis* (штамм 521) секвенировано 48 последовательностей длиной 19,7 Mb. У гриба *F. graminearum* выявлено 9 хромосом и 468 генов, у *F. verticillioides* – 12 хромосом, 486 генов. У возбудителя септориоза пшеницы гриба *Parastagonospora nodorum* секвенировано 109 последовательностей общей длины 37,1 Mb. Проведено также секвенирование таких вредоносных видов как *Blumeria graminis*, *Fusarium sporotrichioides*, *Zymoseptoria tritici* и др.

Новые механизмы изменчивости фитопатогенных грибов

Благодаря исследованиям в области геномики стало очевидным, что важную роль в эволюции эукариот играет горизонтальный перенос генов. Возможны несколько способов горизонтального переноса: 1) перенос отдельных генов, 2) перенос генных кластеров, 3) перенос целых хромосом. Все эти факты требуют внимательного отношения к этому явлению.

За последние годы у многих грибов обнаружены мобильные генетические элементы – транспозоны [3]. Это последовательности ДНК способные интегрироваться в локусы генома, а некоторые из них автономно реплицироваться. Интеграция в локусы генома может приводить к делециям, дупликациям, инверсиям, транслокациям, тем самым, вызывая геномные перестройки. Дальнейшее изучение транспозонов грибов объяснит возникновение некоторых модификаций, откроет но-

вые возможности использования их в генной инженерии.

В 1982 г. были открыты инфекционные белки – прионы. Они являлись переносчиками ряда нейродегенеративных заболеваний человека и животных. Позже прионы были обнаружены у грибов *Saccharomyces cerevisiae* и *Podospora anserina*. В настоящее время прионы рассматриваются как общебиологический механизм лежащий в основе эпигенетического наследования, т.е. когда наследуемые изменения в фенотипе не связаны с изменениями последовательностей ДНК, а активность генов регулируется другими механизмами. Не исключено, что прионы могут существовать и у фитопатогенных грибов, но их надо найти, а затем выяснить их роль в патогенезе.

Молекулярно-генетические механизмы патогенеза и устойчивости растений.

Одним из важнейших направлений исследований является определение генов, ответственных за вирулентность и продуктов генов вирулентности. Важнейшими являются исследования по изучению элиситоров у грибов и сигнальных систем. Сигнальные системы определяют ответные реакции, приводящие либо к совместимому, либо к несовместимому взаимодействию с инфекцией. Они начинают функционировать с контакта патогена или его элиситора с рецептором, чаще всего находящегося на цитоплазматической мембране, и завершаются защитным ответом растительной клетки. Эти взаимодействия элиситора с рецептором требуют тщательного изучения.

Самым крупным достижением в биологии растений со времени открытия хлорофилла считаются работы по клонированию генов устойчивости и исследованию их генопродуктов. Они позволяют манипулировать с отдельными генами, встраивать гены устойчивости в геном восприимчивого растения, конструировать в растениях двухкомпонентную систему защиты из взаимодействующих генов паразита и растения.

Изменение климата

Предсказать будущие последствия изменения климата для болезней растений – непростая задача. Воздействие конкретных заболеваний на окружающую среду, вероятно, изменится в ближайшие десятилетия [4]. Изменится и спектр патогенов. Перед исследованиями будет поставлена задача лучше понять, как климатические изменения повлияют на существующие жизненные циклы патогенов и их выживаемость, восприимчивость к хозяину и взаимодействие хозяина и патогена.

Заключение

Мы затронули ряд наиболее важных приоритетных направлений в фитопатологии XXI века. При этом не следует забывать, что, несмотря на эпохальные открытия XX века и глобальные перспективы XXI века фитопатология остается прикладной наукой. Поэтому важно

сохранять и усовершенствовать традиционные методы фитопатологических исследований. Важнейший элемент интегрированной защиты растений – фитосанитарный мониторинг. Методология фитосанитарного мониторинга включает широкое внедрение информационных технологий. За последние годы были предложены новые методы для фитопатологических исследований, такие как искусственный интеллект и “цифровое фенотипирование” [5]. Важным подспорьем в работе будут иметь существующие базы данных, такие как Genbank, Ensembl, Uniprot и Pfam [6].

Все болезни растений можно условно разделить на две группы: эндемичные и инвазивные. Эндемичные болезни всегда присутствуют в природных популяциях, но слабо вредоносны. Инвазивные болезни часто вызывают эпифитотии, которые способны угрожать самому существованию популяций растения-хозяина [7]. Поэтому, именно инвазивные болезни служат главным предметом внимания фитопатологов.

Важное значение в фитопатологии имеют популяционные исследования. Не случайно существует высказывание, что «История фитопатологии – это история миграций фитопатогенных организмов» [8]. Установление структуры и ареалов популяций фитопатогенных грибов имеет не только научную значимость, но и важное практическое значение для селекции и повышения эффективности защитных мероприятий.

Список литературы

1. Дьяков Ю.Т., Озерцовская О.Л., Джавахия В.Г., Багирова С.Ф. Общая и молекулярная фитопатология. М.: О-во фитопатологов, 2001. 301 с.
2. Crous P.W., Rossman A.Y., Aime M.C. et al. Names of Phytopathogenic Fungi: A Practical Guide // Phytopathology. 2021. V.111. S. 9. P. 1500-1508.
3. Шнырева А.В. Транспозоны как факторы различных перестроек и модификаций в геномах грибов. Генетика. 2003, 39, 5, 621 -636.
4. Levitin M. Climatic Anomalies and Plant Diseases. Recent Research Advances in Biology, 2021, Vol. 9, 28, Page 76-86. <https://doi.org/10.9734/bpi/rrab/v9/9874D>
5. Mahlein, A., Alisaac, E., Al Masri, A., Behman, J., Dehne, H., Oerke, E. Comparison and Combination of Thermal, Fluorescence, and Hyperspectral Imaging for Monitoring Fusarium Head Blight of Wheat on Spikelet Scale. Sensors, 2019, 19 (10), 2281. doi:10.3390/s19102281
6. Turnaev I.I., Afonnikov D.A. Information resources on crop pathogens and pests. Вавиловский журнал генетики и селекции 2022, 8, 1, 84-92. DOI 10.18699/LettersVJ-2022-8-02
7. Дьяков Ю.Т., Левитин М.М. Инвазии фитопатогенных грибов. М.: ЛЕНАНД, 2018. 260 с.
8. Crandall B.S., Gravatt G.F. The distribution of *Phytophthora cinnamomi*. Ceiba. 1967. 13: 43-55.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ *CLADOSPORIUM LIMONIFORME* АССОЦИИРОВАННОГО С ПОСЛЕУБОРОЧНОЙ ПЛОДОВОЙ ГНИЛЬЮ ПЕРСИКА В УЗБЕКИСТАНЕ

Адилов Б.Ш., Шеримбетов А.Г., Рузметов Д.Р., Усманов И.А.

Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз, Юкори–юз, Узбекистан

Грибы из рода *Cladosporium* причиняют экономический ущерб многим сельскохозяйственным культурам, вызывая пятнистость листьев, паршу, послеуборочные

гнили и другие болезни. Они способны поражать растения на всех фазах развития – начиная от семян и заканчивая взрослыми растениями и плодами. По данным

современных исследователей, в мире описано более 700 видов грибов рода *Cladosporium* (Bensch et. al., 2012). Род грибов *Cladosporium* относится к классу Дотидеомицеты, порядку Капнодиальные и семейству *Cladosporiaceae*. Возрастание экономического значения Кладоспориозов для сельского хозяйства наблюдается во всех регионах мира, в том числе и в Узбекистане.

Целью работы являлась диагностика и идентификация возбудителей послеуборочной плодовой гнили персика.

Объектом исследования являлись плоды персика «Лола» с симптомами плодовой гнили, хранившихся необработанными в течение 1 месяца в производственном хранилище – холодильнике с искусственным охлаждением при температуре 0...+2 °C и относительной влажностью воздуха 85-90 %. 10 плодов поверхностно дезинфицировали раствором гипохлорита натрия (1:10) в течение 5 минут и ополаскивали двукратным погружением в стерильную дистиллированную воду. Инфицированные фрагменты внутренних тканей плода асептически извлекали из пятен и помещали на картофельно-декстрозный агар с добавлением 0,1% хлорамфеникола (КДА+С) и инкубировали в течение 7 дней при 25 °C. Возбудители были идентифицированы на уровне рода согласно Pitt и Hocking, 2009, как *Cladosporium*.

Видовая идентификация возбудителя плодовой гнили была выполнена на основании использования метода ДНК-анализа. Выделение ДНК из мицелия выделенных грибов проводили с помощью набора для выделения геномной ДНК «PureLink Genomic DNA Mini Kit» (Thermo Fisher Scientific, США). Измерение количества и качества геномной ДНК проводили с помощью спектрофотометра NanoDrop Eight (Thermo Fisher Scientific, США). ITS регион амплифицировали при помощи ПЦР с использованием смеси

реагентов для амплификации «Platinum™ Taq DNA Polymerase» (Thermo Fisher Scientific, США) и праймеров ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') и ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATGATATGC-3'). Условия амплификации были следующие: 1 цикл начальной денатурации (95°C, 10 мин), затем 40 циклов, включающих денатурацию (94°C, 10 с), отжиг (55°C, 30 с) и элонгацию (72°C, 1 мин), 1 цикл заключительной элонгации (72°C, 5 мин). Полученный ПЦР продукт разделяли путем электрофореза в 2% агарозном геле.

В результате амплификации ITS региона получен ПЦР продукт ожидаемого размера. Полученный ампликон был вырезан из агарозного геля, очищен и секвенирован.

Сравнительный генетический анализ секвенированного ампликона с помощью Blast-анализа в базе данных международного генного банка NCBI показал ближайшее родство (99% сходства по генетической структуре) с видом *Cladosporium limoniforme* штамм Jos:Houbraken:DTO:305-G4 (Австралия). Таким образом результаты молекулярно-фитопатологической экспертизы пораженного растительного материала показали что возбудителем послеуборочной плодовой гнили персика является гриб *Cladosporium limoniforme*, относящийся к комплексу видов *C. herbarum* (*C. herbarum species complex*).

Результаты нашего исследования могут способствовать разработке соответствующих профилактических мер по снижению потерь в производстве персика из-за кладоспориозной гнили в Узбекистане.

Список литературы

1. Bensch K, Braun U, Groenewald JZ, Crous PW. The genus *cladosporium*. *Stud Mycol*. 2012;72(1):1–401.
2. Pitt J, Hocking A. *Fungi and Food Spoilage*. 3rd edition. New York: Springer; 2009.

АНТРАКНОЗ НА ВИНОГРАДНИКАХ КРЫМА – ЭТИОЛОГИЯ, КОНТРОЛЬ РАЗВИТИЯ

Алейникова Н.В., Галкина Е.С., Болотьянская Е.А., Аршава Н.В.
ВНИИВуВ «Магарах» РАН», Ялта
Щелково Агрохим, Москва

Виноградарство на сегодняшний день является активно развивающейся и перспективной отраслью сельскохозяйственного производства в южных регионах Российской Федерации. Обеспечение стабильных урожаев винограда хорошего качества требует сведения к минимуму потерь, связанных с поражением виноградных растений различными болезнями. **На сегодняшний день выявлено множество болезней винограда в основном грибной этиологии, в целом, для микобиома видов рода *Vitis* зарегистрировано более 900 грибных таксонов [1]. При выборе оптимальных технологических решений, направленных на эффективный контроль фитопатогенов необходимо ориентироваться на использование современных методов диагностики, мониторинга и прогноза, а также использовании биологического контроля. В настоящее время многообещающим инструментом для идентификации грибов-возбудителей болезней винограда, а также исследования их эпидемиологии является использование методов молекулярной биологии.**

Антракноз – болезнь винограда европейского эколого-географического происхождения, относится к ос-

новным в странах с влажным климатом и максимально распространена в Аргентине, Австралии, Бразилии, Канаде, Китае, Индии, Японии, Корее, Новой Зеландии, Южной Африке, Таиланде, США и Уругвае [2]. Наиболее восприимчивы к поражению антракнозом столовые сорта винограда, относящиеся к видам *V. vinifera* и *V. Labrusca*. Потери урожая от 50 до 100 %, наблюдаются при одновременном наличии необходимого количества осадков и восприимчивых тканей виноградных растений, поражаются молодые стебли, листья, черешки, усики, гребни и ягоды. Первые симптомы — многочисленные слегка вдавленные круглые или угловатые пятна темно-коричневого цвета на всех надземных частях растений. По мере развития болезни поражения могут сливаться и образовывать язвы или поражение стеблей, вызывая раннюю дефолиацию и задержку созревания ягод [3]. В настоящее время в качестве основных возбудителей антракноза винограда зарегистрированы аскомицет *Elsinoë ampelina* Shear (1929) и комплекс видов *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., также в литературе упоминаются комплекс видов *Colletotrichum*

acutatum Simmonds ex Simmonds и *Colletotrichum capsici* (Syd.) E.J. Butler & Bisby, (1931) [2, 3].

На виноградниках Крыма развитие антракноза носит спорадический характер, так на насаждениях Юго-западной зоны виноградарства в умеренно теплых и дождливых условиях 2008-2010 гг. распространение антракноза наблюдали в средней степени на таких технических сортах, как Пино черный, Ркацители, Алиготе и Каберне-Совиньон [4].

Результаты современных исследований свидетельствуют о том, что эндофитные штаммы *Bacillus sp.*, различные виды микофильных грибов рода *Trichoderma* могут рассматриваться как эффективные агенты биологического контроля патогенных грибов, в том числе возбудителей болезней винограда [5].

Целью настоящих исследований заключалась в уточнении симптомов проявления, идентификации возбудителя антракноза на виноградниках Крыма, а также выделение наиболее эффективных в отношении возбудителя заболевания биопрепаратов.

В результате исследований 2022 года при проведении маршрутных обследований на насаждениях столового сорта Подарок Запорожью одного из предприятий Крыма было зафиксировано интенсивное проявление поражения антракнозом виноградных растений после выпадения осадков во второй декаде июля и первой декаде августа. Симптомы проявления болезни были следующими. На побегах наблюдали светло-коричневые продолговатые пятна, которые постепенно расширялись, темнели и окаймлялись темно-фиолетовым или бурым ободком. На листьях пятна были бурыми с темно-коричневым окаймлением с некротичной выпадающей тканью по центру. На ягодах отмечали буроватые, вдавленные пятна с темной каймой, сереющие по центру. Такой вид пятен послужил причиной распространения названия «гниль – птичий глаз».

С целью идентификации, выделенных с пораженных антракнозом ягод винограда столового сорта Подарок Запорожью в чистую культуру на КГА грибы возбудители антракноза был использован молекулярно-биологический подход на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР). В ПЦР использовались праймеры на родоспецифические участки ITS-региона *Colletotrichum*, синтезированные в ООО Синтол (г. Москва), согласно рекомендациям Каллен и др. [6]. Участок генома, фланкированный этой парой праймеров, составил 447 пар нуклеотидных оснований (пн). Специфичность праймеров подтверждена отсутствием ампликонов с ДНК других эукариотов и прокариотов. Полную геномную ДНК из мицелия экстрагировали в соответствии с протоколом Ли и др. [7]. Клеточные стенки грибного мицелия семидневного возраста разрушали путем измельчения в ступке. Затем добавляли буфер для экстракции СТАВ 2% и после инкубации при 65 °С проводили очистку смесью фенол: хлороформ: изоамиловый спирт (25:24:1) и осаждение изопропанолом. Наконец, ДНК растворяли в 50 мкл ТЕ. Количество и чистота полученной ДНК определялась спектрофотометрически. ПЦР проводилась на четырехканальном программируемом амплификаторе ТП4-ПЦР-01-«Терцик» (ООО ДНК-Технология, г. Москва). Для контроля специфичности ПЦР-теста использовали ДНК *Alternaria alternata* и *Botrytis cinerea*, на геноме которых выбранные праймеры отжигаться не должны. Визуализация результатов

проводилась электрофоретически. На ДНК анализируемого изолята получили единственный специфический фрагмент приблизительно из 447 пн, характерный для грибов рода *Colletotrichum*. На ДНК других видов грибов, ассоциированных с болезнями винограда, праймеры не генерировали какой-либо ПЦР-продукт. Разработанная методика может быть использована для диагностики грибов – возбудителей антракноза винограда, выделенных в чистую культуру или из пораженных органов.

В условиях *in vitro* было протестировано антимикотическую активность 3 биопрепаратов отечественного производства в сравнении с химическим фунгицидом в отношении возбудителя антракноза *Colletotrichum sp.*, применяемые концентрации препаратов соответствовали рекомендациям производителей (таблица 1). Испытания проводились согласно методике по определению эффективности фунгицидов. В качестве питательной среды использовали картофельно-глюкозный агар. Эффективность определяли по формуле Эббота по диаметру области разрастания мицелия на питательной среде при достижении ее максимального размера на контрольном варианте [8, 9].

Табл. 1. Биологическая эффективность биофунгицидов и фунгицида в отношении возбудителя антракноза *Colletotrichum sp.* (2022 г.)

Название, препаративная форма, норма применения	Действующие вещество	5 й день	10-й день
Трихоцин, СП, 80г/га	титр не менее 10 ¹⁰ КОЕ/г <i>Trichoderma harzianum</i> , штамм v Г-30 ВИЗР	100	100
Витоплан, СП, 120г/га	титр не менее 10 ¹⁰ КОЕ/г <i>Bacillus subtilis</i> , штамм ВКМ В-2604D + титр не менее 10 ¹⁰ КОЕ/г <i>Bacillus subtilis</i> штамм ВКМ В-2605D	100	100
Стернифаг, СП, 80г/га	титр 1010 КОЕ/г <i>Trichoderma harzianum</i> , штамм ВКМ F-4099D	99,8	98,0
Гренни, КС, 1,0 л/га	350 г/л дитианона	99,2	98,6

Как видно из данных, представленных в таблице 1, все изучаемые биопрепараты показали высокую антимикотическую активности в отношении *Colletotrichum sp.*, которая соответствовала уровню эффективности химического фунгицида Гренни, КС.

Штаммы гриба *Trichoderma harzianum* наиболее эффективно подавлял активный рост *Colletotrichum sp.*, проявляя фунгистатический алиментарный антагонизм, (колонии гриба рода *Trichoderma harzianum* нарастали на поверхность колонии фитопатогена) [9]. Так биопрепарат Трихоцин, СП 80г/га (титр не менее 10¹⁰ КОЕ/г *Trichoderma harzianum*, штамм Г-30 ВИЗР) ингибировал на 10-е сутки рост колоний гриба *Colletotrichum sp.* С эффективностью 100%, а препарат Стернифаг, СП 80г/га (титр 1010 КОЕ/г *Trichoderma harzianum*, штамм ВКМ F-4099) с эффективностью 98% (таблица 1).

Биопрепарат Витоплан, СП (титр не менее 10¹⁰ КОЕ/г *Bacillus subtilis*, штамм ВКМ В-2604D + титр не менее 10¹⁰ КОЕ/г *Bacillus subtilis* штамм ВКМ В-2605D) также показал высокую эффективность (100 %) в контроле *Colletotrichum sp.*, как на 5-е, так и на 10-е сутки культивирования (таблица 1).

Таким образом, использование молекулярно-биологического подхода на основе полимеразной цепной

реакции позволило установить, что к возбудителям антракноза на виноградниках Крыма относятся виды рода *Colletotrichum*. Также, полученные результаты свидетельствуют о возможности использования биопрепаратов отечественного производства Трихоцин, СП, Стернифог, СП и Витоплан, СП в защите винограда от антракноза на виноградниках Крыма.

Список литературы

1. Jayawardena, R.S., Purahong, W., Zhang, W. et al. (2018) Biodiversity of fun-gi on Vitis vinifera L. revealed by traditional and high-resolution culture-independent approaches. Fungal Diversity 90, 1–84. DOI: 10.1007/s13225-018-0398-4
2. Li, Z, dos Santos, RF, Gao, L, Chang, P, Wang, X. (2021) Current status and future prospects of grapevine anthracnose caused by *Elsinoe ampelina*: An important disease in humid grape-growing regions. Mol Plant Pathol.; 22: 899– 910. DOI: 10.1111/mpp.13076
3. Santos, R.F., Ciampi-Guillardi, M., Amorim, L. et al. (2018), Aetiology of anthracnose on grapevine shoots in Brazil. Plant Pathol, 67: 692-706. DOI: 10.1111/ppa.12756
4. Алейникова Н.В., Иванисова Е.Д. Распространение антракноза винограда в разных виноградарских регионах Юга Украины. /Научные труды Государственного научного учреждения Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства Российской академии сельскохозяйственных наук. 2013. Т. 2. С. 147-153.
5. Nifakos K, Tsalgaidou PC, Thomloui EE, et al. (2021) Plants (Basel). 10 (8):1716. doi: 10.3390/plants10081716. PMID: 34451760; PMCID: PMC8400388
6. Cullen D. W., Lees A. K., Toth I. K., Duncan J. M. (2002) Detection of *Colletotrichum* coccodes from soil and potato tubers by conventional and quantitative real-time PCR. Plant Pathology, Volume 51, Issue3, Pages 281-292/ doi/full/10.1046/j.1365-3059.2002. 00690.x
7. Lee, S. B., M.G. Milgroom, and J.W. Taylor (1988) "A rapid, high yield mini-prep method for isolation of total genomic DNA from fungi," Fungal Genetics Reports: Vol. 35, Article 11. DOI: 10.4148/1941-4765.1531
8. Максимова, Н. П. Антифунгальная активность биопрепаратов на основе природных и эпифитных бактериальных штаммов // Тез. докл. науч.-производ. конф., посвящ. 25-летию БелНИИЗР, Минск – Прилуки, 14–16 февр. 1996 г.: в 2 ч. – Минск, 1996. – Ч. 1. – С. 147–149
9. Pruthvi raj, Suresha D. Ekabote, Balanagouda et al. (2024) In vitro and in vivo evaluation of fungicides against anthracnose disease on pomegranate (*Punica granatum L.*) caused by *Colletotrichum gloeosporioides*, Crop Protection, 106598, ISSN 0261-2194, DOI: 10.1016/j.cropro.2024.106598.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВОГО СОСТАВА ОБЩЕЙ И ПАТОГЕННОЙ МИКОБИОТЫ НЕКОТОРЫХ ПЛОДОВЫХ РАСТЕНИЙ, ВЫРАЩИВАЕМЫХ В АЗЕРБАЙДЖАНЕ

Бахшалиева К.Ф., Арабова Г.Г., Мурадов П.З., Исендер Э.О.
Институт Микробиологии Минобрнауки Азербайджанской Республики, Баку

Вопросы, связанные со всеми продуктами питания, составляют основу главной стратегии безопасности любой страны. Поскольку, как развитие экономики страны, так и удовлетворения спроса населения на здоровое питание являются одним из важных вопросов проверки всей импортируемой и экспортируемой продукции и своевременного нахождения решения любых обнаруженных в них проблем.

На территории Азербайджанской Республики имеющей богатую растительность, распространяется и культивируется ряд растений. Фрукты, сухофрукты, консервы, соки, миндальное молоко, лекарственное растения и др. использующиеся населением для различных целей, а также субтропические растения выращивают для прибыли экономики страны: гранат, оливки, иннаб, миндаль, фисташки, инжир и др.[1]. Если принять во внимание, что эти растения используются не только в виде фруктов, но и в виде сухофруктов, которые после сушки хранятся длительное время, при этом выявление микобиоты упомянутых растений, патогенных видов, участвующих в формировании данной микобиоты, и в случае их обнаружения очень важно найти пути их решения, прежде всего, с точки зрения здоровья человека. Так, микотоксины, являющиеся вторичными метаболитами, синтезируемыми некоторыми грибами, входящими в состав микобиоты растений, вызывают в организме человека иммуноослабляющие, канцерогенные, мутагенные и аллергические реакции [2]. Даже некоторые страны строго контролируют проверку такой продукции, которая ввозится в их страны, и тонны про-

дукции возвращаются, если в продукции обнаруживаются какие-либо аномальные показатели, что вызывает серьезные проблемы. Предотвращение таких проблем является одной из важнейших задач современности.

Поэтому целью исследуемой работы является изучение видового состава микобиоты сухих субтропических растений, а также удельной массы патогенных видов, распространенных на территории Азербайджана и выращиваемых во вновь засаженных интенсивных садах.

Исследования проводились в садах Губа-Хачмазского и Шеки-Загатайского, Абшерон-Хызинского экономических районов, расположенных в регионе Большого Кавказа Азербайджанской Республики.

Образцы для исследования были взяты из надземных органов растений, которые предположительно являются грибами родов *Amygdalis L.*, *Elaeagnus L.*, *Ficus L.*, *Malus L.*, *Pistacia L.*, *Prynys L.*, *Punuca L.* и *Olea L.* и идентифицировали до видового состава классическими методами микологи[3], используя известные определители[4-6].

В результате микологического анализа проб, взятых у указанных растений в результате исследований, выяснилось, что в формировании их микобиоты участвуют 75 видов грибов, из них 6,7% – *Mucormucota*, 53,3% – *Ascomycota* и 40,0% относится к отделу *Basidiomycota*.

При характеристике этих грибов по эколотрофным связям, было выявлено, что настоящие сапротрофы составляют меньшинство и всего 10 видов соответствуют этому признаку. Остальные 65 видов являются либо настоящими биотрофами (21 вид), либо фа-

культативными (44 вида), причем виды, относящиеся к обеим категориям, имеют тенденцию быть в той или иной степени патогенными. Точнее, 86,7% исследуемых грибов теоретически можно считать фитопатогенными, однако частота их встречаемости (или степень распространения вызываемых ими заболеваний) характеризуется разными показателями и причем среди них не обнаружены доминирующие (частота встречаемости выше 50%). Что касается остальных, то есть характеризующихся как частые, случайные и редкие виды, исследования позволяют отметить более высокий удельный вес среди последних исследуемых грибов. Так частота встречаемости *Alternaria consortialis* (Thum.) J.W.Groves & S.Hughes, *A.mali* Roberts, *Armillaria mellea* (Vahl) P.Kumm, *Blumeriella jaapii* (Rehm.) Arx, *Botrytis cinerea* Pers., *Chrysomya sitophila* (Mont.) Arx, *Coniophora puteana* (Schumacher) P.Karst, *Erysiphe polygoni* DC., *E.pirothianan* (Bacc.) U.Braun & S.Takam, *Fomitopsis annosa* (Fr.) Karst, *Fusarium oxysporium* Sclerot., *F.verticillioide* (Sacc.) Nirenberg, *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat, *Gymnosporangium confusum* Plowr., *G.sabinae* (Dicks.) G.Winter, *Fomitopsis pinicola* (Sw) P.Karst, *Heterobasidium annosum* (Fr.) Bref, *Monilia pistaciae* Zarnov., *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr., *Phellinus igniarius*, *Ph.pomaceus*, *Pleurotus ostreatus* (Fr.: Jacq) Kumm, *Podosphaera leucotricha* (Ellis & Everh.) E.S.Salmon, *Rhizoctonia solani* J.G.Kuhn., *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Phyllactinia guttata* (Schidl.) Lev., *Ph.salmonii* S.Blumer, *Podosphaera clandestina* (Wallr) Lev., *P.pannosa* (Wallr.) de Bary, *Schizophyllum commune* Fr., *Septoria amygdali* Woron, *Taphrina deformans* (Berk.) Tul, *Tranzschelia discolor f.sp.persicae* Bolkan, J.M.Ogawa, Michailides & Kable, *T.pruni-spinosae* (Pers.) Dietel, *Trichotectum roseum* Link ex Fr., *Venturia inaequalis* (Cooke) G.Winter, *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold, *V.dahliae* Kleb. и др. фитопатогенных грибов колеблется

от 0,1 до 7,8% и они составляют 92,3% от общего количества фитопатогенов. [javascript:void\(0\)](#)

Только частота встречаемости *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Aschochyta berberidis* E.Radul & Negru, *A.eleagni* Sacc и др. грибов колеблется в пределах от 11,5 до 19,6%, что характерно для часто встречаемых видов. Они составляют 7,7% от общего количества фитопатогенов. [javascript:void\(0\)](#)

Таким образом, из полученных результатов стало ясно, что хотя количество фитопатогенов, входящих в микобиоту исследованных плодовых растений, велико, однако на сегодняшний день они являются как потенциально опасные виды.

Список литературы

1. Бахшалиева, К. Ф., Арапова, Г. Г. Видовой состав микобиоты некоторых плодовых растений, распространенных в Азербайджане // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и Технические Науки. -2022. -№12/2. -С. 13-16
2. Nan, M., Xue, H., Bi, Y. Contamination, Detection and Control of Mycotoxins in Fruits and Vegetables.//Toxins (Basel)., 2022, 27;14(5):309. doi: 10.3390/toxins14050309.
3. Методы экспериментальной микологии./Под. ред. Билай В.И. Киев: Наукова думка, -1982, -500с.
4. Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J.A. Dictionary of the fungi, 10th edn. CABI publishing / P.M. Kirk, — Wallingford(UK), 2008, 600 p
5. Саттон, Д., Фотергилл, А., Риналди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. - Москва: Мир, -2001, -486с.
6. Хохряков, М.К., Доброзракова, Т.Л., Степанов, К.М., Летова, М.Ф. Определитель болезней растений. СПб: Лань, -2003, 592с

ВОЗБУДИТЕЛЬ АЛЬТЕРНАРИОЗА РАПСА И ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АНТАГОНИСТЫ

Бакановская, К. Д., Поликсенова В.Д.
БГУ Биологический факультет, Минск

Введение. Рапс является важной технической и пищевой культурой, его площадь в Беларуси занимает 400-500 тыс. га. В ходе фитопатологического обследования 19 селекционных сортов и гибридов озимого (фаза «желто-зеленого стручка») и ярового (фаза «зеленого стручка») рапса в полевых условиях на базе РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию». Практически на всех образцах ярового рапса обнаружен только один вид заболевания – альтернариоз, на озимом рапсе в фазу «желто-зеленого стручка» выявлено 4 вида: альтернариоз, фомоз, склеротиниоз, вертициллез [1].

Методы исследования. Для определения и характеристики возбудителя альтернариоза, проведения комплекса исследований патоген был выделен в чистую культуру методикой выделения из клубней, луковиц, корнеплодов и плодов [2]. Идентификация проводилась по определителю грибов рода *Alternaria* [3].

Результаты. При идентификации патогена отмечены морфологические признаки чистой культуры. Колония пушистая, округлая, поверхность бугристая, центральная часть кратерная; Край темно-зеленый, ширина 2

мм, контур четкий. Окраска аверса темно-оливковая, реверс шиферный. Экссудата нет.

Конидии цилиндрические, некоторые (10-11 %) обратнобулавовидные, темно-коричневые, с гладкими стенками, без отростков, размером до 60 x 14 мкм, образуют непрерывную цепочечную структуру, иногда наблюдается разветвление у основания. Вторичные конидиеносцы очень короткие. По комплексу морфологических признаков сделан вывод, что выделенный возбудитель относится к виду *Alternaria brassicicola* (Schweinitz) Wiltshire.,

Для определения оптимальных условий роста патоген культивировали на трех различных средах: голодный агар (ГА), картофельно-сахарозный агар (КСА) и среда Чапека. Установлено, что на КСА и среде Чапека скорость роста колонии выше и составляет 0,43-0,44 мм/час. Однако репродуктивная функция патогена успешнее реализуется в условиях недостатка питания. Так, интенсивность спорообразования на голодном агаре (87 064 спор/см²) была в 1,9 раза выше, чем на минеральной среде Чапека и в 5,2 раза выше, чем на ор-

ганической среде КСА. Поскольку заражение растения начинается с прорастания споры, проникновения в ткани и оккупации мезофилла, т.е. с вегетативной стадии развития, дальнейшие исследования мы проводили на КСА.

Поиск антагонистической активности биологических объектов в отношении различных фитопатогенов является важным для создания средств биологической защиты, которые можно использовать в комплексной защите растений. В настоящее время на основе некоторых штаммов триходермы и бактерий рода *Bacillus* уже получены и активно используются биофунгициды. С целью поиска потенциальных антагонистов, способных подавлять развитие *A. brassicicola* в культуре *in vitro* была проведена оценка антагонистической активности почвенного гриба *Trichoderma viride* 457 и двух видов бактерий из рода *Bacillus*.

Взаимоотношения двух видов грибов определяли методом встречных колоний, высевая одновременно в чашке Петри *A. brassicicola* и *Trichoderma viride* 457. Контроль - монокультура каждого гриба. В динамике наблюдений за развитием колоний в течение 10 дней оказалось, что для штамма триходермы характерен более быстрый рост мицелия, опережающий альтернариевый патоген, в первые 3-4 дня. При совместном произрастании двух видов грибов отчетливо наблюдалось угнетение роста *A. brassicicola* по сравнению с триходермой, что выразилось в уменьшении диаметра колонии патогена и ее деформации. В результате к 7 дню культивирования показатель ингибирования роста *A. brassicicola* составил 28 %, т.е. диаметр колоний оказался практически на треть меньше, чем у триходермы. При соприкосновении колоний мицелий триходермы в слабой степени нарастал на колонию патогена.

Таким образом, данные позволяют говорить о взаимоотношении антагониста *Trichoderma viride* 457 и патогена *A. brassicicola* как о фунгистатическом али-

ментарном (одностороннем) антагонизме (нарастание колонии гриба рода *Trichoderma* на поверхность колонии фитопатогена, который в этом случае прекращает активный рост). Из этого следует, что использование штамма *Trichoderma viride* 457 является мало эффективным в борьбе с *A. brassicicola*.

Более активными антагонистами оказались бактерии рода *Bacillus* - *B. subtilis* и *B. amyloliquefaciens*. В эксперименте использовался метод двойных культур. Оба вида бактерий значительно, хотя и в разной степени угнетали рост и развитие *A. brassicicola*. Так, уже на 5-е сутки показатель ингибирования со стороны *B. amyloliquefaciens* был равен 64 %, а со стороны *B. subtilis* достигал 80 %. Репродуктивная функция патогена при этом была полностью подавлена. Таким образом, взаимоотношение изученных видов бактерий и патогена *A. brassicicola* представляют собой антибиотический антагонизм. Штамм *B. subtilis* 424 является потенциально эффективным биоагентом для борьбы и профилактики альтернариоза рапса.

Список литературы

1. Разнообразие фитопатогенных микроорганизмов на посевах *Brassica napus* в полевых условиях: тез. докл. III Международной научной конференции молодых учёных / НАН Беларуси, Ин-т экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича. - Минск: БелНИИТ «Транстехника», 2023 - С 36-39.
2. Поликсенова, В.Д. Методические указания к занятиям спецпрактикума по разделу «Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов» для студентов 4 курса дневного отделения специальности «G 31 01 01 - Биология» / В.Д. Поликсенова, А.К. Храмцов, С.Г. Пискун. - Минск: БГУ, 2004. - 36 с.
3. Ганнибал Ф.Б. Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria*: методическое пособие. / Под ред. М. М. Левитина - СПб: ГНУ ВИЗР Россельхозакадемии, 2011. - С. 28-30.

АНАЛИЗ ВИРУЛЕНТНОСТИ ПОВОЛЖСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ *PUCCINIA GRAMINIS* F. SP. *TRITICI* 2022-2023 ГГ.

Баранова О.А.¹, Сибикеев С.Н.², Конькова Э.А.²

¹ВНИИ защиты растений (ВИЗР), Санкт-Петербург, Пушкин

²Федеральный Аграрный Научный Центр Юго-Востока «ФАНЦ Юго-Востока», Саратов

Биотрофный гриб *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Eriks. & Henn (Pgt) вызывает одно из наиболее опасных заболеваний пшеницы - стеблевую ржавчину. Потери урожая при эпифитотийном развитии болезни могут достигать 50 - 80% и более (Jin *et al.*, 2008). В последние годы увеличилась вредоносность этого патогена как в странах Европы, Африки, Азии, так и в России, однако количество отечественных, устойчивых к возбудителю стеблевой ржавчины сортов пшеницы, невелико. Кроме того, в российских сортах пшеницы остается крайне низкое разнообразие по генам устойчивости (Sr генам) к этому опасному заболеванию. Из генов, распространенных в коммерческих сортах, в нашей стране на данный момент остается эффективен только ген *Sr31* (Baranova *et al.*, 2023). Гены *Sr25* и *Sr6Agi*, широко используемые в селекции яровых сортов пшеницы, к сожалению, потеряли эффективность на территории Поволжья (Баранова и др., 2021). Эта тревожная ситуация развивается на фоне

сохранения угрозы проникновения на территорию России высоковредоносной расы гриба - Ug99 (TTKSK), поражающей сорта с геном *Sr31*, распространенной в странах Африки и мигрирующей в направлении Средней и Юго-Восточной Азии (данные CIMMYT). Также сохраняется вероятность спонтанного появления в нашей стране своих рас гриба, вирулентных к *Sr31*. Такие сообщения уже были: в работе команды ведущих европейских микологов были выделены изоляты гриба из Западносибирской популяции 2016 г, вирулентные к *Sr31* (Patpour *et al.*, 2022). Кроме того, в мире появились новые агрессивные расы гриба, отличные от Ug99: раса TKTTE, обнаруженная в странах Ближнего Востока и Европы (Lewis *et al.*, 2018), раса TKKTP, вирулентная к линиям с генами *Sr24*, *SrTmp* и *Sr1RSAmigo* (Olivera *et al.*, 2017) и раса TTTTE, вызвавшая сильнейшую эпифитотию на твердой пшенице в Сицилии в 2016 году. Раса TTTTE, сходная по фенотипу, но отличная от Си-

цилийской, была выделена из западносибирской популяции гриба 2016 года (по данным Global Rust Reference Center). Раса ТТТТF также была выделена нами ранее из саратовской популяции *P. graminis* f.sp. *tritici* 2016 – 2020 гг.

Поволжье является одним из основных зернопроизводящих регионов России. Для селекции пшеницы на иммунитет к стеблевой ржавчине необходим анализ вирулентности и определение современного расового состава популяций гриба из разных регионов Среднего и Нижнего Поволжья для четкого понимания фитопатологической ситуации. В рамках этих задач летом 2022 и 2023 годов нами были проведены экспедиции по Поволжью (Нижегородская область, Республика Татарстан, Ульяновская область, Самарская область, Саратовская область, Волгоградская область). Получен инфекционный материал из Ульяновской, Пензенской и Саратовской областей, а также Республики Татарстан для генетико-популяционных исследований гриба.

Целью настоящей работы был анализ повожских популяций *P. graminis* f.sp. *tritici* 2022–2023 гг. по признаку вирулентности и расовому составу.

Из собранных в 2022 – 2023 гг популяций гриба были выделены монопустульные изоляты (18 изолятов гриба из татарстанской популяции *Pgt* с сорта Надира 2022г, 26 изолятов из сборной татарстанской популяции *Pgt* с поля ТатНИИСХ 2022г, 19 изолятов из саратовской популяции *Pgt* 2022г, 22 изолята из татарстанской популяции *Pgt* с сорта Йолдыз 2023г, 22 изолята из саратовской популяции *Pgt* с сорта Фаворит 2023г, 20 изолятов из ульяновской популяции *Pgt* с сорта Никон 2023г и 19 изолятов из сборной пензенской популяции 2023г).

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*, *SrWld* и *Sr6Agi*. Также были использованы сорта Аврора (*Sr31*) и Хакасская (восприимчивый контроль). Реакцию проростков линий-дифференциаторов на инокуляцию суспензией спор возбудителя стеблевой ржавчины (концентрация 1 мг/1 мл) учитывали на 10–12-ые сутки после заражения по стандартной шкале (Stakman *et al.*, 1962).

На американском наборе дифференциаторов и добавочных 27 линиях с *Sr*-генами была определена вирулентность татарстанской, саратовской, ульяновской и пензенской популяций гриба, определен расовый состав и эффективные к популяциям гены устойчивости. Ко всем, взятым в анализ в 2022 и 2023 гг популяциям гриба были эффективны гены – *Sr2 compl*, *Sr13*, *Sr26*, *Sr31*, *Sr32*, *Sr35* и сочетания генов *Sr24+31*, *Sr36+31*, *Sr26+9g* и *Sr17+13*. Показано, что из генов, распространенных в коммерческих сортах пшеницы, ген *Sr31* пока сохраняет свою эффективность. Ген *Sr26* также эффективен к популяциям патогена, однако его, к сожалению, нет в российских сортах. Ген *Sr25* был эффективен только против татарстанской популяции с сорта Надира 2022г и сорта Йолдыз 2023г. Ген *Sr6Agi* был эффективен только против татарстанской популяций гриба – с сортов Надира и Сакара 2022г и с сорта Йолдыз 2023г.

На рисунке представлены результаты анализа вирулентности повожских популяций *P. graminis* f. sp. *tritici* к *Sr*-линиям по годам (с 2022 по 2023).

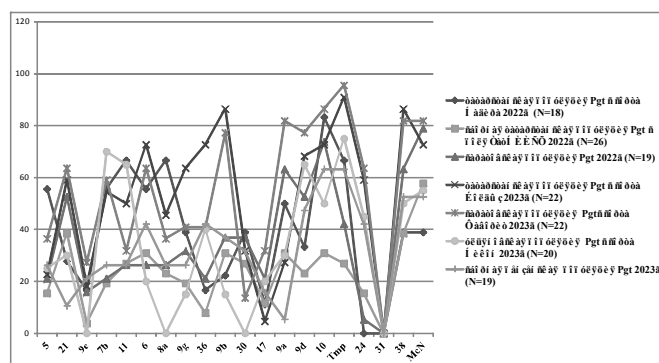


Рис. 1. Динамика частот вирулентности повожских популяций *P. graminis* f. sp. *tritici* к линиям с *Sr* генами 2022–2023 гг (%).

При сравнении татарстанской популяции с сорта Йолдыз 2023г и татарстанской популяции с сорта Надира 2022 г можно констатировать снижение в популяции с сорта Йолдыз изолятов с геном вирулентности *r5* и резкое увеличение количества изолятов с генами вирулентности *pp21*, *9g*, *36*, *9b*, *9d*, *24*, *38*, *McN*. При сравнении саратовской популяции гриба с сорта Фаворит 2023г со сборной саратовской популяцией *P. graminis* f. sp. *tritici* 2022г наблюдается увеличение в 2023г количества изолятов с генами *pp7b*, *6*, *9b*, *Tmp* и *24*. Показатели по остальным генам были примерно на одном уровне. Надо отметить резкое увеличение во всех популяциях 2023 года количества изолятов с геном вирулентности *r24*. Это негативный факт, так как сейчас этот ген вводится в селекционный процесс Поволжских селекционеров, таких как ТатНИИСХ, ФАНЦ Юго-востока, Ульяновский НИИСХ. Основываясь на наших результатах, рекомендуется использовать его в сочетании с эффективными генами – *Sr31*, *Sr2* и *Sr26*. В популяциях гриба не было изолятов, вирулентных к линии с геном *Sr31*, и мы можем сделать обоснованный вывод о том, что заноса расы *Ug99* и ее биотипов на территорию Поволжья пока не произошло.

Расовый состав популяций патогена 2022 и 2023 гг отличался высоким фенотипическим разнообразием. В популяциях гриба 2023 года, как и в популяциях 2022г отмечается большое количество авирулентных изолятов. Однако из саратовской популяции патогена 2022г были выделены 1 изолят ТТТТF (с сорта Воевода) и 2 изолята ТТТТF. В популяциях 2023г максимальное количество генов вирулентности – 19 идентифицировано у одного изолята ТТТТP с сорта Йолдыз татарстанской популяции патогена и 17 генов вирулентности – у двух изолятов КТРТP из саратовской популяции патогена с сорта Фаворит.

Исследования повожских популяций *P. graminis* f. sp. *tritici* последних лет показали, что в них постоянно присутствуют агрессивные изоляты гриба, такие как ТТТТF, ТТТТF и ТТТТP. С другой стороны, потеря эффективности ранее значимых для селекции генов устойчивости, таких как *Sr25* и *Sr6Agi* требует направить усилия на внедрение в селекционный процесс таких эффективных против возбудителя стеблевой ржавчины генов как *Sr2* и *Sr26* и вести постоянный мониторинг за расовым составом гриба. Определение эффективных генов устойчивости к популяциям патогена позволит целенаправленно использовать эти данные в направленной

селекции на иммунитет сортов твердой и мягкой пшеницы.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №22-26-00172

Список литературы

1. Jin, Y., Szabo, L. J., Pretorius, Z. A., et al. Detection of virulence to resistance gene Sr24 within race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Plant Disease. 2008. Vol.92. 923-926.
2. Baranova, O.; Solyanikova, V.; Kyrova, E.; Kon'kova, E.; Gaponov, S.; Sergeev, V.; Shevchenko, S.; Mal'chikov, P.; Dolzhenko, D.; Bespalova, L.; et al. Evaluation of Resistance to Stem Rust and Identification of Sr Genes in Russian Spring and Winter Wheat Cultivars in the Volga Region. Agriculture. 2023;13:635. DOI:10.3390/agriculture13030635
3. Баранова О.А., Сибикеев С.Н., Дружин А.Е., Созина И.Д. Потеря эффективности генов устойчивости к стеблевой ржавчине Sr25 и Sr6Ag1 на территории нижнего Поволжья. Вестник защиты растений. 2021;104.2:105-112. DOI:10.31993/2308-6459-2021-104-2-14994

4. Patpour M., Hovmøller M.S., Rodriguez-Algaba J., Randazzo B., Villegas D., Shamanin V.P. et al. Wheat stem rust back in Europe: diversity, prevalence and impact on host resistance. Frontiers in Plant Science. 2022;13:882440:1-17. DOI: 10.3389/fpls.2022.882440
5. 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.
6. 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.
7. 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. DOI:10.1094/PDIS-91-9-1096.
8. 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).

ВЫЯВЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНЫХ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ ПРОТИВ РАС БУРОЙ РЖАВЧИНЫ ПШЕНИЦЫ В ЦЕНТРАЛЬНОМ РЕГИОНЕ РОССИИ

Белякова С.Ю., Коломиец Т.М., Киселева М.И., Жемчужина Н.С.
ВНИИ фитопатологии, (ВНИИФ), Большие Вяземы

Центральный регион занимает немаловажное звено в производстве зерна пшеницы в России. Существенную роль в сохранении урожая и увеличения валовых сборов зерна играет фитосанитарный фактор. Особенно остро стоит вопрос о сокращении потерь урожая от многочисленных вредоносных болезней, среди которых наибольший урон причиняют болезни вегетативных и репродуктивных органов (листьев, стебля, колоса) [1].

В число этих заболеваний входит возбудитель бурой ржавчины пшеницы, которая поражает вегетативные органы растений. Бурая ржавчина (возбудитель *Puccinia recondita* Rob. ex Desm f. sp. *tritici* Erikss. et Henn.) является распространенным и вредоносным заболеванием пшеницы. Урожай зерна пшеницы от заболевания снижается до 10%, а в годы эпифитотийного развития болезни потери урожая могут достигать более 40%. В основных районах возделывания пшеницы (Центрально-Чернозёмный, Северокавказский, Центральный и Поволжский регионы) эпифитотии происходят часто – 3-4 раза в 10 лет [2]. В зоне Среднего Поволжья потери урожая от бурой ржавчины достигают в среднем 30%, при орошении – 35%, а в годы сильных эпифитотий доходят до 62% [3-5]. Конечно, проблема бурой ржавчины была бы не такой острой, при использовании устойчивых сортов пшеницы к этому заболеванию. Для решения этой задачи следует учитывать множество факторов, в числе которых большое значение имеют как особенности этиологии самого заболевания, так и методы, используемые при отборе устойчивых генотипов пшеницы, критерии их отбора, а также возможность использовать широкий спектр ресурсов мирового генофонда различных генетических коллекций для того, чтобы найти надежные доноры и источники устойчивости к бурой ржавчине.

Эффективность генов ювенильной устойчивости к возбудителю бурой ржавчины проявляется иммунной или резистентной реакциями сортов и селекционных

линий пшеницы, сохраняемыми во все фазы развития растений. Уровень эффективности генов ювенильной устойчивости пшеницы к возбудителю бурой ржавчины зависит от наличия комплементарных генов вирулентности в популяциях патогена.

Цель и задачи исследований:

Целью данной работы являлось выявление эффективных генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине в Московской области.

В ходе работы предстояло решить следующие задачи:

- изучить вирулентность популяций *P. recondita*, в районах возделывания пшеницы в Московской области;
- определить эффективные гены устойчивости пшеницы к бурой ржавчине в Московской обл.

Материалы и методы:

В условиях лаборатории эффективность генов ювенильной устойчивости пшеницы к популяциям *P. recondita* устанавливают при оценке вирулентности изолятов гриба на всходах моногенных линий пшеницы в условиях, оптимальных для развития растений и патогена. Исследования проводили в камерах лаборатории искусственного климата ФБНУ ВНИИФ в контролируемых условиях, оптимальных для развития растений и патогена. Этим параметрам соответствовали относительная среднесуточная температура воздуха +20-22°C, относительная влажность воздуха 60-70 %, освещенность 10-15 тыс. люкс, световой период – 16 часов.

Об эффективности генов устойчивости к *P. triticina* судили по результатам изучения вирулентности монопустульных изолятов гриба на всходах наборов, состоящих из 42 линий пшеницы с Thatcher с генами ювенильной устойчивости: *Lr 1*, *Lr 2a*, *Lr 2b*, *Lr 2c*, *Lr 3a*, *Lr 3bg*, *Lr 3ka*, *Lr 9*, *Lr 10*, *Lr 11*, *Lr 14a*, *Lr 14b*, *Lr 15*, *Lr 16*, *Lr 17*, *Lr 18*, *Lr 19*, *Lr 20*, *Lr 21*, *Lr 23*, *Lr 24*, *Lr 25*, *Lr 26*, *Lr 27+*

Lr 31, Lr 28, Lr 29, Lr 30, Lr 32, Lr 33, Lr 36, Lr 38, Lr 39, Lr 40, Lr 41, Lr 42, Lr 44, Lr 45, Lr 46, Lr 47, Lr51, Lr53, LrB.

По реакции Lr-линий пшеницы на заражение изолятами гриба гены ювенильной устойчивости были разделены на группы по степени эффективности:

- эффективные гены. В этом случае линии пшеницы с соответствующими генами проявляли устойчивость ко всей выборке изолятов *P. recondita*;
- средне эффективные гены – линии восприимчивы не более чем к 20% изолятов гриба;
- слабоэффективные гены - линии пшеницы восприимчивы к 21-50% изолятов;
- неэффективные гены - линии пшеницы восприимчивы более чем 50% всех проверенных изолятов.

Результаты:

В 2023 году эффективность генов устанавливали по реакции моногенных Lr-линий пшеницы с. Thatcher на заражение 24 изолятами *P. recondita*, изолированными с сортов яровой и озимой пшеницы из Московской области. Результаты оценки поражения всходов пшеницы позволили разделить гены ювенильной устойчивости на группы, различающиеся эффективностью к патогену (таблица 1).

Табл. 1. Распределение генов ювенильной устойчивости пшеницы к *P. recondita* по степени эффективности (Московская обл., 2023)

Уровень эффективности генов ювенильной устойчивости	Частота вирулентных изолятов гриба, %	Линии пшеницы с генами ювенильной устойчивости	Кол-во генов в группе	
			ед.	%
Эффективные	0	Lr9, Lr24, Lr41, Lr42, Lr47, Lr51, Lr53	7	16,7
Средне-эффективные	1-20	Lr2a, Lr45	2	4,7
Слабоэффективные	21-50	Lr23, Lr25, Lr28, Lr29, Lr36, Lr38	6	14,3
Неэффективные	51-100	Lr1, Lr2b, Lr2, Lr3a, Lr3bg, Lr3ka, Lr10, Lr11, Lr14a, Lr14b, Lr15, Lr16, Lr17, Lr18, Lr19, Lr20, Lr21, Lr26, Lr27+ Lr31, Lr30, Lr32, Lr33, Lr39, Lr40, Lr44, Lr46, LrB	27	64,3

Состав и количество генов ювенильной устойчивости в группах зависели от частоты встречаемости комплементарных им генов вирулентности в популяциях гриба.

Высокую устойчивость ко всем изолятам *P. recondita* проявили 7 моногенных линий пшеницы, что послужило основанием считать соответствующие гены эффективными. Незначительное количество изолятов, преодолевших резистентность линий с генами *Lr2a*, *Lr45*, дало возможность отнести соответствующие гены

устойчивости к средне-эффективным. Отмечено прева-лирование генов устойчивости, отнесенных к группам слабоэффективные и неэффективные (в сумме 78,6%), однако эти гены не представляют интереса для селекцион-ной практики.

Таким образом, по результатам исследований, полу-ченным в 2023 году, на посевах озимой и яровой пше-ницы из Московской области определены группы генов ювенильной устойчивости с различной степенью эф-фективности к популяции *P. recondita*. Практический интерес представляет группа с эффективными гена-ми *Lr9, Lr24, Lr41, Lr42, Lr47, Lr51, Lr53*, проявившими устойчивость к популяции патогена. Эти гены могут быть рекомендованы селекционерам в качестве доно-ров устойчивости к бурой ржавчине при создании но-вых сортов пшеницы.

Список литературы

1. Санин С.С., Сандухадзе Б.И., Мамедов Р.З., Карлова Л.В., Корнева Л.Г., Рулева О.М. Интенсификация производства зерна пшеницы, фитосанитария и защита растений в Централь-ном районе России. Агрохимия. 2020. №10. С. 36-44.

2. Санин С.С., Назарова Л.Н., Стрижекозин Ю.А., Корнева Л.Г., Жохова Т.П., Полякова Т.М., Копорова Т.И. Фитосанитарная обстановка на посевах пшеницы в Российской Федерации (1991-2008 гг.). Защита и карантин растений. 2010. № 2. С. 69-80.

3. Жемчужина А.И., Жемчужина Н.С., Коваленко Е.Д. Расовый состав *Puccinia triticina* на территории Центрального и Западно-Сибирского регионов в 2009—2010 гг. Материалы Меж-дународной научно-практической конференции «Иммуногене-тическая защита сельскохозяйственных культур от болезней: теория и практика». Большие Вяземы Московской области. 2012. С. 126-129.

4. Коваленко Е.Д., Жемчужина А.И., Киселева М.И., Ко-ломиец Т.М., Лапочкина И.Ф., Худокормова Ж.Н., Боккельман Г. Современное состояние популяций возбудителя бурой ржав-чины и создание генбанка источников и доноров устойчивости пшеницы / Материалы Международной научно-практической конференции «Иммуногенетическая защита сельскохозяйствен-ных культур от болезней: теория и практика». - Большие Вяземы Московской области, 2012. С. 69–74.

5. Маркелова Т.С. Изучение структуры и изменчивости популяции бурой ржавчины пшеницы (*Puccinia recondita* f. sp. tritici, Rob. et Desm.) в Поволжье. АгроXX.I 2007. № 4–6. С.37-39

6. Коваленко Е.Д., Коломиец Т.М., Киселева М.И., Жемчу-жина 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.

7. Mains E.E., Jackson H.C. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat, *Puccinia triticina* Erikss.. Phytopathology. 1926. 16, 2. P. 89-120.

МИКРОБИОМ ГРИБОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РАСТЕНИЯМИ

Чудинова Е.М.¹, Платонов В.А.¹, Еланский С.Н.^{1,2}

¹Российский университет дружбы народов, Москва

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Многочисленные исследования показали, что с гри-бами могут быть ассоциированы микровирусы, бактерии, водоросли и другие грибы. Было предложено рассма-тривать грибы как холобионт – совокупность организ-ма-хозяина с населяющими его микроорганизмами [1]. Ассоциированные с грибами микроорганизмы могут находиться как внутри мицелия (эндобиионты) так и

снаружи (эпибиионты) и существенно влиять на свой-ства гриба, моделировать взаимоотношения грибов с растением хозяином. Описан пример зависимости пато-генности гриба *Rhizopus microsporus* от присутствия бак-терий *Burkholderia rhizoxinica*: при симбиотическом взаи-модействии эти два микроорганизма вызывают болезнь - пятнистость листьев рассады риса [2]. Взаимодействие

микоризных грибов с бактерией *Devosia* sp. оказывает ростостимулирующий эффект на растения *Prunella vulgaris* [3]. Работы с применением современных методов, основанных на секвенировании тотальной ДНК, выделенной из мицелия грибов, показали высокое биоразнообразие бактерий, населяющие грибы, однако оценить патогенность или ростостимулирующие свойства бактерий в исследованиях такого рода невозможно [4, 5, 6, 7]. Для того чтобы определить возможную физиологическую роль ассоциированных с грибами бактерий необходимо выделять бактерии в чистые культуры, именно такие исследования ведутся в нашей лаборатории в настоящее время. Одним из самых удачных опытов было выделение бактерий из штамма *Fusarium sporotrichioides* 18KrSbL17AB (номер последовательности участка гена фактора элонгации 1a в базе NCBI - ON292360). Этот штамм при искусственном заражении ломтиков картофеля во влажной камере проявил более высокую агрессивность по сравнению с другими штаммами того же вида. Из штамма гриба было выделено 20 штаммов бактерий. Таксономическую принадлежность определяли с помощью секвенирования последовательности участка 16S рибосомных генов, амплифицированных по праймерам (27c/519r-ТТb) [8]. Один штамм относился к таксону *Agrobacterium* sp., 6 к таксону *Pseudomonas* sp., 2 к *Sphingobacterium* sp., 11 к *Stenotrophomonas* sp. Тестирование на патогенность проводили на ломтиках картофеля во влажной камере. 10 мкл суспензии бактерий в концентрации 10⁷ КОЕ/мл наносили в центр ломтика картофеля, результаты фиксировали после 24 часов. Все шесть штаммов, относящиеся к *Pseudomonas* sp. проявили высокую агрессивность по отношению к ломтикам картофеля. Через 24 часа ткань картофеля в области нанесения суспензии бактерий была разрушена, бактерии *Sphingobacterium* sp. и *Stenotrophomonas* sp. не оказали влияния на картофель. Бактерия *Agrobacterium* sp. вызвала быстрый рост корней из глазков клубней картофеля, длина корней через пять дней достигала около 5 см.

Таким образом, в микробиом одного гриба могут входить бактерии, способствующие развитию патогене-

за, ростостимулирующие бактерии и нейтральные для растения бактерии. Связь бактерий с грибом довольно устойчива, поскольку гриб хранился в коллекции 5 лет до того, как из него были выделены бактерии.

Работа поддержана Российским Научным Фондом грант № 23-26-00069

Список литературы

1. Kelliher JM, Robinson AJ, Longley R, et al. The endohyphal microbiome: current progress and challenges for scaling down integrative multi-omic microbiome research. *Microbiome*. 2023 11(1):192.
2. Partida-Martinez L. P., Hertweck C. Pathogenic fungus harbours endosymbiotic bacteria for toxin production. *Nature*. 2005 437:884–888
3. Zhang, C., van der Heijden, M.G.A., Dodds, B.K. et al. A tripartite bacterial-fungal-plant symbiosis in the mycorrhiza-shaped microbiome drives plant growth and mycorrhization. *Microbiome*. 2024 12: 13
4. Hoffman MT, Arnold AE. Diverse bacteria inhabit living hyphae of phylogenetically diverse fungal endophytes. *Appl Environ Microbiol*. 2010 76(12):4063–75
5. Desirò A, Salvioli A, Ngonkeu EL, et al.. Detection of a novel intracellular microbiome hosted in arbuscular mycorrhizal fungi. *ISME J*. 2014 8(2):257–70
6. Robinson, A.J., House, G.L., Morales, D.P. et al. Widespread bacterial diversity within the bacteriome of fungi. *Commun Biol*. 2021 4:1168
7. Platonov VA, Chudinova EM, Elansky SN. Adaptation of plant protection technology considering fungal-bacterial associations. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries*. 2024 19(1):122–126
8. Lane D.J. 16S/23S sequencing. In: Stackebrandt E., Goodfellow M., editors. *Nucleic Acid Technologies in Bacterial Systematics*. Wiley; Chichester: 1991. pp115–

ВИДЫ РОДА *FUSARIUM* НА КЛУБНЯХ КАРТОФЕЛЯ И ПЛОДАХ ТОМАТА В РОССИИ

Еланский С.Н.^{1,2}, Еланский А.С.¹, Чудинова Е.М.¹, Скоков Д.Н.¹, Цинделиани А.А.¹, Белосохов А.Ф., Ярмеева М.М.²

¹ Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Грибы из рода *Fusarium* распространены по всему земному шару и вызывают поражения разных растений, в том числе картофеля и томата. Они способны поражать разные органы растений, как надземные, так и подземные. Наибольшую опасность представляет сухая гниль клубней картофеля и фузариозное увядание, наблюдающееся как у картофеля, так и у томата. У томата также поражаются плоды.

Пораженные сухой гнилью клубни картофеля отбирали при уборке и из картофелехранилищ при переборке клубней. Были отобраны пробы пораженных клубней картофеля из партий, выращенных в Камчатском и Краснодарском краях, в Астраханской, Московской, Брянской, Калужской, Тульской областях, республиках Крым и Марий Эл. Зеленые плоды томата с видимыми симптомами грибных поражений отбирали на полях открытого грунта Краснодарского края, Астраханской и Саратовской областей. Всего выделены в чистую культу-

ру и проанализированы 90 штаммов грибов рода *Fusarium* из клубней картофеля и 21 штамм из плодов томата.

Определение принадлежности к роду *Fusarium* проводили по культурально-морфологическим признакам. Для определения принадлежности к комплексу видов у всех штаммов определяли последовательности части генов фактора элонгации транскрипции (*tef1a*, праймеры EF1 and EF2 [1]) и гена бета-тубулина (*β-tub*, праймеры Btu-F-F01 - Btu-F-R01 [2]). У части штаммов также определена последовательность ITS1-5,8S-ITS2 (праймеры ITS4 - ITS5 [3]).

Среди проанализированных штаммов, выделенных из клубней картофеля, были отмечены следующие комплексы видов: *F. oxysporum* species complex (FOSC, самый распространенный – 40% всех проанализированных изолятов, встречался повсеместно), *F. tricinctum* species complex (FTrSC, 19%, встречен в Московской, Костромской, Калужской областях), *F. sambucinum* species com-

plex (FSamSC, 16%, встречен в Московской, Костромской областях, респ. Марий Эл), *F. solani* species complex (FSSC, 13%, встречался повсеместно), *F. nisikadoi* species complex (FNisSC, 4%, встречен в Московской и Астраханской областях), *F. torulosum* (3%, встречен в Камчатском крае), *F. fujikuroi* species complex (FFujSC, 2%, найден в Костромской области и в Крыму), *F. merismoides* (1%, встречен в Камчатском крае), *F. lateritium* species complex (FLatSC, 1%, найден в Марий Эл).

Среди выделенных с плодов томата самыми распространенными были штаммы, принадлежащие к *F. incarnatum-equiseti* species complex (FIESC, 71%, распространены повсеместно). На клубнях картофеля в России штаммы этого видового комплекса не встречались, однако они были встречены на листьях картофеля в Московской и Астраханской областях и на стеблях картофеля в Архангельской области. Штаммы, принадлежавшие к FIESC, были нами выделены из пораженных сухой гнилью клубней картофеля, выращенных в Мали, Уганде и Гамбии. В Краснодарском крае на плодах томата также были выявлены штаммы, относящиеся к *F. oxysporum* species complex (FOSC, 19%) и к *F. fujikuroi* species complex (FFujSC, 10%).

Проверка вирулентности показала, что все тестируемые изоляты (за исключением *F. merismoides*), выделенные с картофеля и томата, были способны развиваться на ломтиках клубней картофеля и плодов томата. Все

проанализированные штаммы были восприимчивы к фунгицидам тиабендазол и дифеноконазол.

Исследование выполнено при поддержке Российского Научного Фонда (грант 23-16-00048).

Список литературы

1. O'Donnell K., Kistler H.C., Cigelnik E. et al. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1998. V.95. P. 2044–2049.
2. Watanabe M., Yonezawa T., Lee K. et al. 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. V. 11. 322. DOI: 10.1186/1471-2148-11-322.
3. White T.J., Bruns T., Lee S.J.W.T. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J. (eds). PCR—protocols and applications—a laboratory manual. Academic Press, San Diego. 1990. P. 315–322.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ГРИБОВ *FUSARIUM* НА КУЛЬТУРЕ ПЕРЦА СЛАДКОГО (*CAPSICUM ANNUUM* L.) В УСЛОВИЯХ ЮЖНЫХ РЕГИОНОВ РОССИИ

Енгалычева И.А.¹, Козарь Е.Г.¹, Чижик В.К.^{1,2}, Шингалиев А.С.²

¹ Федеральный научный центр овощеводства, ВНИИССОК

² ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии, Москва

Серьезной угрозой для производства перца остается поражение возбудителями фузариозного увядания. На культуре перца доминирующими видами являются *Fusarium oxysporum* и *F. solani* [1-3]. По сообщениям исследователей, в проявлении фузариоза участвуют также *F. verticillioides*, *F. pallidoroseum*, *F. equiseti*, *F. proliferatum*, *F. anthophilum* [3,4]. Усиливается вредоносность видов, ранее считавшихся слабопатогенными для культур семейства *Solanaceae*. Так, вид *F. equiseti* в Мексике и долине Кашмира вызывал симптомы увядания и гниль плодов [5]. Авторы указывают, что потери урожая связаны с недооцененностью этого вида как патогенного. Всестороннее изучение грибов *Fusarium* является важнейшей задачей как для выявления структуры микocenозов и отслеживания происходящих в них изменений во времени и пространстве, так и в рамках опережающей селекции на устойчивость к этим фитопатогенам. В России данных по идентификации грибов *Fusarium* на культуре перца нет. Поэтому целью исследования был мониторинг видового биоразнообразия грибов рода *Fusarium* южных агробиocenозов России и оценка патогенности выделенных видов в отношении растения-хозяина.

Материалы и методы. Исследования выполнялись на базе лабораторий молекулярно - иммунологических исследований ФГБНУ «Федеральный научный центр

овощеводства» и лаборатории ДНК маркеров растений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии». Мониторинг распространения фузариоза проведен в 2019-2022 годах в Краснодарском крае и Симферопольской области. Выделенные 74 изолята рода *Fusarium* протестированы на патогенность на десяти сортах перца с целью подтверждения постулатов Коха. О степени агрессивности изолятов судили по параметрам степени развития болезни (R,%) и величине эффекта действия (ЭД) на корень и стебель, который рассчитывали по следующей формуле согласно [6]:

$$\text{ЭД} = \frac{(\text{значение в опыте} - \text{значение в контроле})}{(\text{значение в контроле}) \times 100, \%}$$

Отрицательное значение ЭД указывает на ингибирование роста после заражения относительно контроля.

Таксономический статус грибов *Fusarium* был молекулярно подтвержден по нуклеотидным последовательностям внутреннего транскрибируемого спейсера ITS и фактора элонгации и трансляции 1-альфа (EF1) и охарактеризован на основании определителей и научных публикаций.

Результаты. Впервые в условиях юга России в структуре патокomплекса возбудителей фузариозно-

го увядания на культуре перца сладкого, в результате молекулярно-филогенетического и макро-микроморфологического анализа идентифицированы и охарактеризованы наиболее экономически значимые виды грибов рода *Fusarium*: *F. clavus*, *F. oxysporum*, *F. commune*, *F. solani*, *F. verticillioides*, *F. torulosum* и *F. sporotrichioides*.

В результате фитопатологического мониторинга было выявлено, что в зависимости от анализируемого региона выращивания отмечена специфика в биоразнообразии идентифицированных видов и различное их соотношение в патоконкомплексах, что, в конечном счете, влияло на распространенность и характер проявления симптоматики болезни. Так, в обоих областях первые признаки фузариоза проявлялись в фазу бутонизации с видимого увядания, при разрезе стебля отмечали потемнение или сильную некротизацию. В условиях Симферополя, начиная с 2021 года, отмечалась сильная некротизация не только проводящей системы растений, но и генеративных органов. Зачастую на таких растениях плоды отсутствовали или образовывались мелкие. Степень распространения трахеомикозного увядания в Симферополе составляла 25-64% с индексом поражения 0-4 балла в зависимости от условий года и уровня устойчивости сортов, в Краснодарском крае эти показатели были значительно ниже – 15-22% с индексом поражения 0-2 балла.

Из общего числа выделенных в обоих регионах 74 изолятов рода *Fusarium* доминирующими видами были *F. clavus* (46% от общего числа), *F. verticillioides* (20%) и *F. sporotrichioides* (16%). Причем в условиях Крыма в патогенезе трахеомикозного увядания участвовали все выявленные виды, различалось только их процентное соотношение в зависимости от места локализации симптома. Наибольшую долю изолятов, выделенных из пораженных стеблей перца, составляли *F. clavus*, *F. sporotrichioides*, *F. solani* и *F. verticillioides* - 38%, 21%, 14% и 13% соответственно. Доминирующими видами в патоконкомплексе пораженных корней в Симферополе - *F. clavus* (53%), *F. sporotrichioides* (20%) и *F. verticillioides* (13%). Интересно, что *F. oxysporum* и *F. torulosum* были выделены только из пораженных стеблей перца, а *F. commune* - из корней.

В Краснодарском крае комплекс видов, выделенных из пораженных органов, менее разнообразен и представлен двумя видами: *F. clavus* и *F. verticillioides*. Их соотношение среди выделенных из корней изолятов было равным.

Ежегодный фитомониторинг видового состава возбудителей фузариозного увядания перца позволил нам определить не только его структуру, но и выявить изменение доминирующих видов в Симферопольском регионе. В 2019 году патоконкомплекс грибов *Fusarium* на перце был представлен видами *F. solani*, *F. sporotrichioides*, *F. verticillioides* и *F. clavus* со значительным преобладанием *F. sporotrichioides*. К 2022 году произошло значительное изменение видового состава в микоценозе. Так, вместе с ранее идентифицированными видами появились *F. commune*, *F. oxysporum* и *F. torulosum*. Причем частота встречаемости *F. solani*, *F. sporotrichioides* и *F. verticillioides* резко снизилась, а нишу доминирующих видов заняли *F. clavus*, *F. oxysporum* и *F. torulosum* со значительным доминированием *F. clavus*.

Изучение степени агрессивности идентифицированных видов в отношении культуры перца проводили пу-

тем заражения вегетирующих растений с целью выявления истинных возбудителей увядания, которые могут вызвать заражение корневой и сосудистой системы *in vivo* (таблица 1).

Табл. 1. Индекс поражения заболевания и эффекты воздействия (ЭД) на рост растений сортов перца при инокуляции различными видами фузариоза.

Штамм	Степень развития болезни, %		*Эффект действия, %		Доля восприимчивых образцов, %
	диапазон	среднее	корень	стебель	
Контроль	0	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0
<i>F. sporotrichioides</i>	0-5,4	0,1 ^a	0 ^a	0 ^a	0
<i>F. torulosum</i>	0-5,4	0,1 ^a	0 ^a	0 ^a	0
<i>F. solani</i>	12,5-100	87,5 ^b	-28,0 ^b	-24,0 ^b	68,8
<i>F. oxysporum</i>	12,5-100	89,2 ^b	-24,0 ^b	-22,0 ^b	74,5
<i>F. clavus</i>	12,5-100	96,8 ^{bc}	-39,0 ^{bc}	-40,0 ^{bc}	76,0
<i>F. verticillioides</i>	12,5-100	93,5 ^{bc}	-41,0 ^{bc}	-44,0 ^{bc}	76,0

Примечание: *ЭД — эффект воздействия на корень и стебель; **в таблице приведены средние значения степени развития болезни в совокупности всех проанализированных сортов, инфицированных изолятом; а–с: значения с одинаковой буквой достоверно не имеют существенной разницы с вероятностью 95% согласно тесту Дункана.

При инокуляции растений перца штаммами *F. sporotrichioides* и *F. torulosum* не наблюдалось никаких явных внешних симптомов. Хотя у некоторых восприимчивых сортов были обнаружены растения с признаками увядания, в среднем для всех проанализированных растений различия относительно контрольных вариантов были незначительными.

При заражении штаммами *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. clavus* и *F. verticillioides* была выявлена достоверно высокая ($P \leq 0,05$) агрессивность по отношению к тестируемому сорту. В ходе эксперимента была отмечена высокая степень развития болезней при инокуляции этих видов (87,5–93,5%) и угнетение развития как корневой системы, так и надземных частей проростков.

Таким образом, в результате фитомониторинга южных регионов выращивания перца в России был изучен современный видовой состав рода *Fusarium*. В зависимости от анализируемого региона была отмечена специфика биоразнообразия выявленных видов и их различное соотношение в патоконкомплексах. При изучении агрессивности выделенных изолятов в отношении широкого спектра сортов перца было обнаружено, что только виды *F. clavus*, *F. verticillioides*, *F. solani* и *F. oxysporum* могут вызывать симптомы увядания при трахеомикозе. Впервые была продемонстрирована высокая агрессивность *F. clavus* и *F. verticillioides* по отношению к культуре перца.

Список литературы

1. Singh J.K., Kumar M., Kumar S., et al. Inhibitory Effect of Botanicals on Growth and Sporulation of *Fusarium Oxysporum* Inciting Wilt of Chilli (*Capsicum Annuum* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2017, 6, 2199–2204.

2. Tembhurne B., Belabadevi B., Kisan et al. Molecular Characterization and Screening for *Fusarium* (*Fusarium Solani*) Resistance in Chilli (*Capsicum Annuum* L.) Genotypes. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci* 2017, 6, 1585–1597, doi:10.20546/ijcmas.2017.609.195.

3. Shaheen N., Khan U.M., Azhar M.T. et al. Genetics and Genomics of Fusarium Wilt of Chilies: A Review. *Agronomy* 2021, 11, 2162, doi:10.3390/agronomy11112162.

4. Mejía-Bautista M.A., Cristóbal-Alejo J., Tun-Suárez J.M. et al. Actividad in Vitro de Bacillus Spp. En La Inhibición de Crecimiento Micelial de Fusarium Equiseti Y Fusarium Solani Aislado de Chile Habanero (Capsicum Chinense Jacq.). *Agrociencia* 2016, 50, 1123–1135.

5. Hami A., Rasool R.S., Khan N.A., et al. Morpho-Molecular Identification and First Report of Fusarium Equiseti in Causing Chilli Wilt from Kashmir (Northern Himalayas). *Sci Rep* 2021, 11, 3610, doi:10.1038/s41598-021-82854-5.

6. Engalycheva I.A., Kozar E.G., Kameneva A.V., Kornilova M.S. Cucumis Melo L. Pathocomplex Micromycetes Composition and Aggressiveness in Dry Farming Land in Volgograd Region. *Biosfera* 2022, 14, 311–315, doi:10.24855/biosfera.v14i4.696.

ПАТОГЕННОСТЬ ГРИБОВ РОДА *FUSARIUM* К КЛУБНЯМ *SOLANUM TUBEROSUM* L. РАЗНЫХ СОРТОВ

Гаврилова О.П.¹, Орина А.С.¹, Трубин И.И.^{1,2}, Гагкаева Т.Ю.¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого

Фузариозная сухая гниль картофеля (ФСГК), вызываемая грибами рода *Fusarium*, является широко распространенным, вредоносным заболеванием, приводящим к потере урожая в период хранения, в также снижающим семенное качество клубней [1–3]. ФСГК проявляется в виде бурых пятен, иногда с темной каймой, сопровождающихся образованием концентрических колец и сморщиванием перидермы. Согласно современным представлениям, среди возбудителей ФСГК могут встречаться до 13 видов *Fusarium*, состав которых зависит от условий выращивания картофеля [4–11], а агрессивность в отношении клубней картофеля существенно варьирует [5, 7, 11].

Целью исследования являлось сравнение агрессивности штаммов разных видов грибов *Fusarium* к клубням картофеля разных сортов.

Из коллекции микроорганизмов лаборатории микологии и фитопатологии ФГБНУ ВИЗР в качестве объектов исследования выбрали 33 штамма 13 видов грибов *Fusarium* — представителей семи комплексов видов *Fusarium*: *F. equiseti*; *F. commune*; *F. oxysporum* и *F. nirenbergiae*; *F. redolens*; *F. sambucinum*, *F. venenatum*, *F. graminearum* и *F. sporotrichioides*; *F. mori*, *F. noneumartii*, *F. stercicola* и *F. vanettenii*. Все грибы были выделены из клубней картофеля с симптомами ФСГК, выращенного в различных регионах РФ. Идентификация штаммов подтверждена с помощью филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей фрагментов гена фактора элонгации трансляции EF-1α и гена, кодирующего большую субъединицу РНК полимеразы II типа.

Анализировали патогенность штаммов *Fusarium*, в отношении клубней трёх столовых сортов картофеля Гала, Ред Леди и Импала, широко возделываемых на территории РФ. Сорта Гала и Импала характеризуются сходным содержанием крахмала в клубнях (10,2–13,2 и 10,5–14,6 %), тогда как Ред Леди содержит крахмала больше — 12,5–16,8%. Гала относится к группе сортов среднеранней спелости, а Ред Леди и Импала являются раннеспелыми [12].

Клубни без видимых повреждений поверхностно стерилизовали 5% гипохлоритом натрия в течение 5 мин, промывали водой и высушивали при комнатной температуре. Затем микробиологическим сверлом в области столона вырезали отверстие глубиной 20 мм и шириной 5 мм, сохраняя цилиндр вырезанной ткани. Из культур грибов, предварительно выращенных на КСА в течение 7 суток, микробиологическим сверлом вырезали диски диаметром 4 мм и помещали их внутрь вырезанного отверстия в клубне, которое закрывали

сохранённым цилиндром. Одним штаммом инокулировали не менее 5 клубней, которые затем помещали в пластиковые кюветы, неплотно закрывали крышкой и инкубировали при 23 °С без освещения. В контрольном варианте в отверстие помещали диск чистой среды КСА. Через две недели инкубации у клубней удаляли появившиеся проростки. Через 4 недели клубни разрезали вдоль оси инокуляции и измеряли перпендикулярные размеры симптома поражения клубня (мм), рассчитывая среднее значение. Размеры некрозов, вызванных грибами, для каждого варианта оценивали, исключая средние размеры инокуляционного канала в контроле.

Восприимчивость сортов картофеля к ФСГК оценивали согласно размерам повреждений, вызванных грибами *Fusarium* при инокуляции клубней. Сорт характеризовали как устойчивый (R), если размер повреждения в среднем не превышал 10 мм, как восприимчивый (S), если размер повреждения был более 25 мм, а в остальных случаях — как относительно восприимчивый (MS).

В неинокулированном грибами контроле размер механического повреждения клубней с. Гала составил в среднем 13,5±0,1 мм, с. Ред Леди — 14,6±0,4 мм и с. Импала — 13,7±0,1 мм.

Анализируемые штаммы *Fusarium* spp. значительно различались по агрессивности к клубням картофеля (Рисунок 1). Выявлена достоверная связь между видовой принадлежностью штамма *Fusarium* и размерами вызываемых ими симптомов поражения растительной ткани ($p=0,025$ – $p=0,044$). Ранее многие исследователи отмечали, что среди грибов *Fusarium* могут встречаться как высокоагрессивные к клубням картофеля штаммы, так и непатогенные [5, 11, 13, 14].

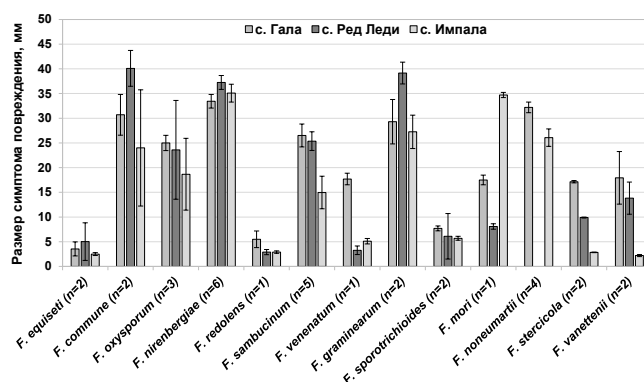


Рис. 1. Относительные размеры поражения клубней картофеля разных сортов при инокуляции штаммами грибов *Fusarium* (23 °С, 4 недели, в темноте).

В данном исследовании наименее агрессивными к клубням картофеля трёх анализированных сортов являлись штаммы *F. equiseti*, *F. redolens* и *F. sporotrichioides*, поскольку инокуляция ими приводила к появлению незначительных некрозов клубней (максимум составил $7,7\pm0,5$ мм). По всей видимости, эти грибы, выделенные из клубней с симптомами ФСГК, не являлись основными этиологическими агентами заболевания, а колонизировали уже повреждённую растительную ткань. Штаммы остальных 10 анализированных видов *Fusarium* были способны вызывать значительные поражения клубней картофеля, варьирующие в зависимости от вида патогена и сорта картофеля. Высокоагрессивными к клубням всех трех сортов картофеля оказались штаммы *F. commune*, *F. oxysporum*, *F. nirenbergiae*, *F. graminearum* и *F. noneumartii*, тогда как, в случае инокуляции клубней разных сортов другими штаммами (особенно представителями комплекса видов *F. solani*) отмечены достоверные различия по величине вызванных ими симптомов ФСГК. Максимальные некрозы клубней достигали $38,4\pm0,9$ мм (*F. nirenbergiae*, с. Гала), $40,5\pm1,9$ мм (*F. nirenbergiae*, с. Импала) и $43,8\pm0,1$ мм (*F. commune*, с. Ред Леди).

Отмечены различия агрессивности штаммов *Fusarium* spp., относящихся к одному комплексу видов. Среди представителей комплекса видов *F. oxysporum*, штаммы *F. nirenbergiae* являлись наиболее агрессивными к клубням всех сортов и вызывали повреждения тканей в 1,3–1,9 раз обширнее, по сравнению со штаммами *F. oxysporum*. Также, различалась агрессивность штаммов двух близкородственных видов комплекса *F. sambucinum*: повреждения клубней трёх сортов картофеля штаммами *F. sambucinum* оказались в 1,5–7,7 раз значительнее, чем штаммом *F. venenatum*. Среди представителей комплекса FSSC штаммы *F. noneumartii* вызывали наибольшие повреждения клубней с. Гала, по сравнению с штаммами *F. mori*, *F. stercicola* и *F. vanettenii*. В то же время, при инокуляции клубней с. Импала, наиболее агрессивным оказался штамм *F. mori*.

Выявлена достоверная связь между размерами повреждений, вызванных анализированными штаммами

на клубнях картофеля разных сортов (коэффициенты корреляции составили $0,69\div0,80$ при $p<0,0001$).

Различия сортов картофеля по реакции на инфицирование грибами *Fusarium*, вызывающими ФСГК, неоднократно показаны [5, 6, 8, 9, 15]. Характеристика восприимчивости трёх включённых в исследование сортов к представителям разных видов *Fusarium*, приведена в таблице 1. Наиболее устойчивым оказался с. Импала, а наиболее восприимчивым — с. Гала, что объясняется их генетическими сортовыми особенностями.

Табл. 1. Восприимчивость сортов картофеля к инфицированию грибами *Fusarium* (инокуляция клубней при 23 °С, 4 недели, без освещения)

Вид <i>Fusarium</i>	Характеристика сорта		
	Гала	Ред Леди	Импала
<i>F. commune</i>	S	S	MS
<i>F. oxysporum</i>	S	MS	MS
<i>F. nirenbergiae</i>	S	S	S
<i>F. sambucinum</i>	S	S	MS
<i>F. venenatum</i>	MS	R	R
<i>F. graminearum</i>	S	S	S
<i>F. mori</i>	MS	*	S
<i>F. noneumartii</i>	S	*	S
<i>F. stercicola</i>	MS	MS	R
<i>F. vanettenii</i>	MS	MS	R

* — не анализировали; R — устойчивый, MS — относительно восприимчивый, S — восприимчивый.

Информация об агрессивности разных видов грибов *Fusarium*, а также о восприимчивости сортов картофеля к ФСГК, позволяет получить представление о взаимоотношениях растения и патогена. Результаты данного исследования демонстрируют необходимость скрининга устойчивости сортов картофеля к сухой гнили с учётом видовой принадлежности *Fusarium*.

Исследование выполнено при поддержке РНФ (№ проекта 23-26-00105).

ВИДЫ CERCOSPORA, АССОЦИИРОВАННЫЕ С СОЕЙ

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

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

Виды рода *Cercospora* (*Mycosphaerellaceae*, *Mycosphaerellales*) составляют один из богатейших родов грибов, насчитывающий более 1000 видов. Бóльшая часть видов *Cercospora* являются возбудителями болезней растений, главным образом пятнистостей листьев. Эти грибы широко распространены по всему миру в разных климатических условиях.

Важным фактором в понимании возникновения, распространения и борьбы с болезнями растений является точная и надёжная идентификация их возбудителей. Традиционно определение видов *Cercospora* основывалось на ассоциации с растением-хозяином. Считалось, что виды *Cercospora*, как правило, специфичны для хозяина и могут заражать растения одного

рода или семейства. Сочетание таких признаков, как особенности конидиеносцев и конидиогенных локусов, отсутствие или наличие пигментации конидиеносцев и конидий, использовалось для разделения рода на морфологически сходные единицы.

Болезни сои, вызываемые видами *Cercospora*, широко распространены во всех регионах соеосеяния. Долгое время считалось, что сою могут поражать только два вида *Cercospora*. *Cercospora kikuchii* вызывает пурпурный церкоспороз листьев и семян, тогда как *Cercospora sojina* – церкоспорозную пятнистость листьев. Считалось, что оба вида специфичны для растения-хозяина.

Традиционно *C. kikuchii* идентифицировали по характерным симптомам – наличию пурпурных пятен

на семенной коже сои, фиолетовому окрашиванию гипокотилей, стеблей, листьев и черешков. *Cercospora sojina* также обычно идентифицировали по симптомам, таким как округлые пятна от коричневого до серого цвета на листьях, окружённые чётко выраженной красновато-коричневой каймой. Кроме того, болезнь иногда проявляется на стеблях, бобах и семенах.

Сейчас известно, что методы молекулярной филологии являются наиболее надёжными для идентификации видов грибов-возбудителей болезней растений, в частности, видов *Cercospora*. Для реконструкции филогении и определения штаммов *Cercospora* до таксонов уровня видов наиболее таксономически информативной является комбинация из шести локусов ДНК: область внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS) и участки генов, ответственных за синтез актина (*act*), гистона 3 (*his3*), глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (*gapdh*), кальмодулина (*cal*), фактора элонгации транскрипции 1- α (*tef1*).

В коллекции чистых культур Лаборатории микологии и фитопатологии имени А.А. Ячевского Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений (МФ, ВИЗР) хранятся 18 штаммов *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 штаммы, выделенные из листьев и семян с симптомами церкоспороза, были определены как *C. sojina*, все штаммы, полученные из пурпурно окрашенных семян – как *C. kikuchii*. Два штамма были идентифицированы только до рода. Целью работы была корректная идентификация всех штаммов *Cercospora* по молекулярно-генетическим признакам с помощью мультилокусного филогенетического анализа.

Для всех штаммов были определены нуклеотидные последовательности шести филогенетически информативных локусов ДНК. Филогенетические деревья были построены согласно трём алгоритмам: метод максимального правдоподобия, принцип максимальной экономии и анализ последовательностей методом Байесовской статистики.

Было построено комбинированное филогенетическое дерево, включающее все виды *Cercospora*, для которых есть молекулярно-генетические данные, а также большинство штаммов, ассоциированных с заболеваниями сои, суммарно 470 штаммов (Gomzhina et al. 2024). Нуклеотидные последовательности ITS-локуса были получены, но исключены из филогенетического анализа из-за противоречивых результатов.

Десять штаммов формировали на комбинированной филограмме кладу, включающую типовой (CBS 132615) и шесть репрезентативных штаммов *C. sojina*. Остальные восемь штаммов вошли в состав семи филогенетических линий, пять из которых являлись монофилетическими, а две другие – полифилетическими. Все три штамма из Южной Америки вошли в состав полифилетических клад. Два – в кладу, сформированную типовым (CBS128.27) и репрезентативными штаммами *C. kikuchii*, один – в кладу со штаммами *Cercospora* sp. Q (по Groenewald et al. 2013). Один штамм из Амурской области составил единую монофилетическую кладу со штаммами *Cercospora* cf. *sigesbeckiae*. Монофилетичная

клада *Cercospora alchemillicola* включала три эталонных штамма и типовой (CPC 5259). Штамм MF 3.1 из Амурской области был близкородственным, но не внутри этой клады, поэтому он был идентифицирован как *C. cf. alchemillicola*. Штаммы MF 3.1 и MF 3.12 также из Амурской области формировали монофилетическую кладу со штаммом *Cercospora celosiae* (CBS 132600). Штамм MF 3.19 из Крыма образовал отдельную монофилетическую кладу, которая не включала типовые или репрезентативные штаммы *Cercospora*, и, следовательно, рассматривается как кандидат на новый вид *Cercospora*.

Идентификация штаммов *Cercospora* по симптомам на сое и по морфологическим признакам согласовывалась с результатами филогенетического анализа для всех десяти штаммов *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 со штаммами, выделенными из семян сои с симптомами пурпурного церкоспороза и предварительно идентифицированными как *C. kikuchii*, оказалась сложнее. Достоверно лишь два штамма были отнесены к этому виду, оба они были выделены из сои, выращенной в Южной Америке. Остальные штаммы, выделенные из пурпурно окрашенных семян, были идентифицированы как другие виды *Cercospora*. Один штамм из Южной Америки как *Cercospora* sp. Q. Остальные штаммы из Амурской области – как представители видов *C. cf. alchemillicola* (1 штамм), *C. celosiae* (2) и *C. cf. sigesbeckiae* (1). Полученные результаты подтверждают гипотезу о том, пурпурный церкоспороз сои может иметь несколько этиологических агентов.

Известны многочисленные находки *C. celosiae*, ассоциированных с *Celosia* spp. в Южной, Северной Америке и странах Азии (Farr & Rossman 2015). Но единственным штаммом, идентификация которого подтверждена филогенетическим анализом, является CBS 132600, выделенный из *Celosia argentea* var. *cristata* из Южной Кореи (Groenewald et al. 2013). *Cercospora* cf. *sigesbeckiae* описан в 1949 г. из листьев *Sigesbeckia glabrescens*. Этот вид вызывает заболевания сои, небольшое количество таких штаммов выявлено в Японии (Groenewald et al. 2013), Аргентине (Soares et al. 2015), Иране (Bakhshi & Zare 2020) и США (Albu et al. 2016). Помимо сои, этот гриб может вызывать пятнистость листьев у растений других семейств (Farr & Rossman 2015; Groenewald et al. 2013). Штамм MF 3.11 был идентифицирован как *C. cf. alchemillicola*. Штаммы, близкородственные *C. alchemillicola*, выделенные из сои, ранее были обнаружены в Бразилии (Soares et al. 2015), а теперь и в России. Подводя итог, можно сказать, что штаммы *C. celosiae*, *C. cf. alchemillicola* и *C. cf. sigesbeckiae* это первые находки этих видов грибов в России.

Интересным является тот факт, что вопреки ожиданиям среди изученной коллекции ни один штамм из России по молекулярно-генетическим признакам не был идентифицирован как *C. kikuchii*.

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

Список литературы

1. Gomzhina MM, Gasich EL, Gannibal PB. 2024. Cercospora species associated with soybean diseases in Russia. Mycological Progress 23:22. DOI: 10.1007/s11557-024-01960-6

2. 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: 10.3114/sim0012

3. Farr DE, Rossman AY. 2015. Fungal databases, systematic mycology and microbiology laboratory. Agricultural research service United States department of agriculture. <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>. Accessed cited 2024 Jan 19.

4. Soares APG, Guillin EA, Borges LL, da Silva ACT, de Almeida ÁMR, Grijalba PE et al. 2015. More Cercospora species infect soybeans across the Americas than meets the eye. PLoS ONE 10(8): e0133495. DOI: 10.1371/journal.pone.0133495

5. Bakhshi M, Zare R. 2020. Polyphasic identification of Cercospora cf. sigesbeckiae as causal agent of cercospora leaf spot of oilseed plants soybean, sesame and rapeseed in Golestan and Mazandaran provinces. IJPP 56(2): 177–192. DOI: 10.22034/IJPP.2020.46904

6. 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: 10.1094/PHYTO-12-15-0332-R

ПОДБОР ПИТАТЕЛЬНОЙ АГАРИЗОВАННОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ВОЗБУДИТЕЛЕЙ АНТРАКНОЗА И АСКОХИТОЗА ОГУРЦА ПОСЕВНОГО

Горнак А.Ю., Федюшко И.А.
Белорусский государственный университет, Минск

Огурец посевной (*Cucumis sativus*) является одним из часто культивируемых растений на приусадебных участках, а также промышленных теплицах. В связи с тем, что огуречную лозу выращивают как монокультуру в агрофитоценозах, она более подвержена поражению ряду фитопатогенных грибов. К примеру, антракнозу и аскохитозу.

Антракноз – заболевание, которое поражает листья, черешки и плоды огурца. Проявляется в форме пятен различной формы: округлые, продолговатые светло-бурой или желтой окраски, с образованием на поверхности пятен желто-розовых подушечек (ацервул) с темно-оливковыми щетинками (с 1–4 перегородками) [1]. Возбудителем является ацервулярный целомицет *Gloeosporium orbiculare* (Berk.) Berk. (syn. *Colletotrichum lagenarium* (De Not.) Ellis & Halst.). Показано, что фитопатоген сокращает площадь фотосинтезирующей поверхности на 29–42 %, что приводит к потере урожая на 6–48 % и преждевременной гибели огуречной лозы [2].

Аскохитоз – заболевание, которое поражает стебли, боковые побеги, листья и плоды [1]. Пятна очень крупные, вначале желто-бурые с хлоротичной зоной вокруг, позднее беловатые, покрытые черными пикнидиомами гриба [3]. Возбудителем является пикнидиальный целомицет *Ascochyta cucumis* Fautrey & Roum. (syn. = *A. cucumis* Fautr.et Roum, *A. bryoniae* Kab. et Bub., *A. bryoniae* H.Zimm., *A. citrullina* C.O. Sm., *A. sicyi* Novos., *Diplodina citrullina* (C.O. Sm.) Grossenb., *D. cucurbitae* Nevod. ex Dejeva). Показано, что фитопатоген приводит к снижению урожая у сильно поражаемых сортов до 52%, слабо поражаемых – 9,3 % [4, 5].

Важно отметить, что оба заболевания широко распространены как в теплицах, так и условиях открытого грунта, приводя к снижению качества плодов и урожайности культуры [2]. Кроме того, данные микромицеты являются чужеродными для микобиоты Беларуси [6].

Цель – выявление оптимальной агаризованной питательной среды для культивирования, а также оценки биологических характеристик фитопатогенов в чистой культуре.

Для выявления лучшей среды для культивирования этих грибов нами отобраны 4 типа агаризованных питательных сред, которые часто используют для выделения и культивирования фитопатогенных грибов [7]: кар-

тофельно-морковный агар (КМА), картофельно-глюкозный агар (КГА), овсяный агар (ОА) и минеральная среда Чапека. Приоритетом для отбора послужили следующие характеристики: прозрачность среды, быстрый рост микромицета, образование неплотного мицелия, а также неплотного габитуса споруляции (спорогенных структур).

Микромицеты выделяли из гербаризованных листьев, поражённых фитопатогенными грибами. Стандартной методикой для выделения грибов из листьев растений с признаками поражения грибами [7]. Культивировали при 23±2 °С в течение 22 суток.

Результаты исследования приведены в таблице 1 для *Ascochyta cucumeris* и в таблице 2 для *Gloeosporium orbiculare*.

Табл. 1. Биологические характеристики чистых культур *Ascochyta cucumeris* на 22 сутки

Параметры	Питательные среды			
	КМА	КГА	ОА	среда Чапека
Диаметр колонии, мм	90	90	90	20*
Плотность мицелия	Рыхлый	Плотный	Плотный	
Окраска мицелия	Темно-коричнево-черная	Темно-коричнево-черная	Темно-коричневая	
Споры				
Конидиогенные структуры	+	+	+	

Примечание: * – за 22 дня наблюдался очень слабый рост гриба.

На первой неделе культивирования на КМА формировался воздушный и субстратный мицелий. При микроскопировании чашек обнаружили уплотнения мицелия, изменение его окраски и формирование шароподобных структур. На КГА же после первой недели образовался только воздушный и субстратный мицелий. Гриб на ОА образовал плотный воздушный и субстратный мицелий. На среде Чапека был отмечен слабый рост с плотным воздушным и субстратным мицелием. Конидий и пикнидиом обнаружено не было.

На второй неделе культивирования на КМА внутри шароподобных структур были обнаружены зачатки

плектенхимы, что свидетельствует о формировании пикнид. На КГА обнаружили очень плотный воздушный и субстратный мицелий и только зачатки шаро-подобных структур. На ОА и на среде Чапека видимых изменений не обнаружено.

На третьей неделе на КМА, КГА и ОА отмечались пикнидиомы. Однако при изучении их внутреннего содержимого конидий обнаружено не было. На среде Чапека шароподобных структур замечено не было, радиальная скорость роста мицелия была визуально ниже, чем на углеводсодержащих средах.

Табл. 2. Биологические характеристики чистых культур *Gloeosporium orbiculare* на 22 сутки

Характеристики	Питательные среды			
	КМА	КГА	ОА	среда Чапека
Диаметр колонии, мм	90	90	90	30
Плотность мицелия	Рыхлый	Рыхлый	Рыхлый	Рыхлый
Окраска мицелия	Белая	Белая	Белая	Белая
Споры				
Ацервулы	+	+		

После первой недели культивирования на КМА формировался воздушный ватоподобный белый мицелий, после двух недель культивирования наблюдали формирование ацервул со щетинками, но без конидий, на третьей неделе культивирования ацервул стало больше, но конидий также не было. На КГА после двух недель культивирования развился только воздушный мицелий, после трех недель начали появляться ацервулы. На ОА после трех недель культивирования образовался только белый воздушный мицелий. На среде Чапека рост наблюдался очень медленный, образования ацервул не наблюдалось. Однако нами было отмечено, что на гифах воздушного мицелия, на всех агаризованных средах формировались очень мелкие, одноклеточные микроконидии.

Для дальнейшей работы нами была отобрана среда КМА для обоих грибов, т.к. преимуществами стали следующие параметры: прозрачность среды, относительно быстрый рост, неплотный субстратный и воздушный мицелий, а также быстрое образование спорогенных структур. Однако по нашим наблюдениям за 4 недели культивирования микромицета в пикнидиомах и ацервулах не сформировались конидии, а только начали формироваться конидиогенные клетки.

Список литературы

1. Котова В.В., Кунгурцева О.В. Антракноз сельскохозяйственных растений. Вестник защиты растений. – 2014. – № 11. – С. 4–132.

2. Chen Y., Dai G. Antifungal activity of plant extracts against *Colletotrichum lagenarium*, the causal agent of anthracnose in cucumber Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2012. – Vol. 92, n. 2. – P. 1937–1943.

3. Ханаева Д.К., Саакян М.Т. Болезни огурца и меры борьбы с ними. Агрофорум. – 2023. – №3. – С. 67–68.

4. *Colletotrichum lagenarium* // MYCOBANK Database [Электронный ресурс]. – Режим доступа <https://www.mycobank.org/page/Name%20details%20page/419190>. – Дата доступа: 16.03.24

5. Гринько Н.Н. Аскохитоз огурцов. Защита и карантин растений. – 2003. – № 4. – С. 32–33.

6. Поликсенова В.Д., Храмцов А. К. Чужеродные фитопатогенные микромицеты Беларуси. Вестник БГУ Сер. 2. – 2015. – №3. – С. 43–47..

7. Поликсенова В.Д., Храмцов А.К., Пискун С.Г. Методические указания к занятиям спецпрактикума по разделу «Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов» для студентов 4 курса дневного отделения специальности «G 31 01 01 – Биология» Мн.: БГУ, 2004. – 36 с

ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТАВА ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ УЗБЕКИСТАНА.

Камилов Ш.Г., Авазов С.Э.

Ташкентский государственный аграрный университет, Узбекистан

ВВЕДЕНИЕ

Значение классических работ в биологии, как общей науки, вне сомнений. Биология, как и другие общие науки, включает в себя большой конгломерат знаний, который делятся на отдельные отрасли, именно отдельные науки, включая классические – ботанику, зоологию, микробиологию и другие.

На земном шаре известно большее количество живых организмов. Считается, что только фитопатогенных грибов, насчитывает более 100 000 видов, что до конца наличие живых организмов, включая грибы, именно видов, в биологическом определении, мы, до конца не знаем.

Весь этот комплекс характеризуется чрезвычайным разнообразием, однако все организмы имеют свою определенную филогенетическую историю и связаны между собой определенной степенью родства. Главнейшей задачей систематики является выявление связей

между отдельными группами и объединение их в различные систематические категории.

Необходимо отметить, согласно А.А.Ячевского (1933), само по себе изучение флоры грибов отдельных регионов, районов либо территорий является первоочередной задачей микологов, т.е. флористические изыскания в области микологии – это первая ступень, совершенно необходимая для всех дальнейших исследователей, позволяющая ставить разнообразные проблемы и намечать пути к их решению.

Фитопатогенные микромицеты – возбудители болезней растений причиняющие ущерб сельскому и декоративному хозяйству, вызывают закономерный интерес микологов и фитопатологов.

В связи с чем, задачей данной работы является - донести сведения об изученности и современной таксономии микобиоты, в основе, фитопатогенных микромицетов Узбекистана, северо-западной части Центральной Азии.

Данная статья основана на опубликованных данных предыдущих поколений фитопатологов и микологов Узбекистана и сопредельных территорий, а также коллег и собственных исследований (Флора грибов Узбекистана, 1983-1991). Данные по составу фитопатогенных грибов, за исключением целомицетов были опубликованы в статье Shukhrat Kamilov, Mukhiddin Mamiev, Samad Utaganov and Lola Babajanova, (2021). Данная статья дополнена анализом состава целомицетов (меланкониальных и пикнидиальных грибов) Узбекистана.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Рассматривая формирование фитопатогенной микобиоты, необходимо отметить, что состав ее возникает в результате сложных взаимоотношений между грибами, растениями и средой и представляет неслучайный набор видов, а вполне закономерный подбор их, формирующийся под воздействием общих физико-географических и исторических условий местности, а также биоэкологических особенностей.

История развития фитопатологических и микологических исследований в Узбекистане и сопредельных территорий связана с работами Н.Г.Запрометова, П.Н.Головина, Т.С.Панфиловой, Н.И.Гапоненко, С.С.Рамазановой, Б.А.Хасановым и многими другими исследователями (Камилов и др., 2020)

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Целью данной статьи было привести данные о современной таксономии микобиоты Узбекистана, в основе фитопатологическом составе, согласно современной систематики грибов, не исключая классической таксономии Саккардо, по работам Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Staples J. A. and others / Ainsworth & Bisby's dictionary, 10 ed. (2008) и McLaughlin D.J., Spatofora J.W. (2014).

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

В данной статье приводятся результаты данных по составу грибов – микромицетов отмеченных в условиях Узбекистана.

В настоящее время, микобиота Узбекистана включает в себя 1124 вида из 149 родов, 114 семейств и 41 порядка.

ОБСУЖДЕНИЕ ИМЕЮЩИХСЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящее время в составе грибов-микромицетом отмечаются представители грибов, и согласно современной таксономии, грибо-подобных организмов.

По классической системе Саккардо, оомицеты и хитридиомицеты относятся к низшим грибам. В связи с чем, мы, представителей Oomycota также обсуждаем в данной статье. Согласно современным воззрениям, оомицеты относятся к грибо-подобным организмам.

В изучение микобиоты Узбекистана большой вклад внесли сотрудники лаборатории споровых растений Института ботаники АН Узбекистана. В результате проведенных экспедиций и маршрутных обследований были собраны и определены более 2000 видов грибов. После проведенной ревизии хранящихся в гербарии лаборатории микологии Института ботаники АН РУз видов, мы можем говорить о наличии на территории Узбекистана 1124 вида из 149 родов, 114 семейств и 41 порядка.

В составе оомицетов выявлено 132 вида, относящихся к 6 родам, 2 семействам и 9 порядкам. Сапролегниевые грибы широко распространены в водоемах

как сапротрофы на растительных остатках, животных субстратах. Известна их вредоносность при разведении рыб. Выявленные виды относятся к родам: *Aphanomyces* DB с 4 видами, *Achlya* Nees (9 видов), *Dictyushus* Leitg. (2), *Saprolegnia* Nees (8), *Protoachlya* Coker (1), *Isoachlya* Kauffman (3), *Aphanomycopsis* Scherff. (1). Из порядка Leptomitales выявлены по 1 виду из родов *Leptomitus* C.Agardh и *Apodachlya* Pringsh. Из порядка Rhipidiales по 1 виду из родов *Rhipidium* Cornu и *Sapromyces* Fritsch. Из оомицетов, в частности Альбугиевых грибов также выявлено 3 вида р. *Albugo* (Pers.) Roussel. К данной группе также относятся виды семейств Pythiaceae – типичные почвенные сапротрофы и возбудители корневой гнили культурных растений, 3 вида р. *Pythium* Pringsh. и 1 вид р. *Pytiogeton* Minden. Из Peronosporaceae – по 1 виду родов *Sclerospora* J.Schrot и *Phytophthora* DB, 4 вида из р. *Plasmopara* J.Schrot. и 75 видов *Peronospora* Corda.

К представителям бывших хитридиомицетов относятся виды филумов Chytridiomycota, а также Monoblepharidimycota и Blastocladiomycota. Из которых к Chytridiomycota относятся 8 видов из 4 родов: *Olpidiopsis* Cornu (1), *Olpidium* (A.Braun) J.Schrot. (5), *Rhizophlyctis* A.Fisch. (1), *Sporophlyctis* Serbinow относящихся к 4 семействам и 3 порядкам, к Monoblepharidimycota – 2 вида из 2 родов, *Monoblepharales* Cornu (1), *Harpochytrium* Lagerh. (1) из 2 семейств и 1 порядка, к Blastocladiomycota – 2 вида из 2 родов, *Allomyces* E.J.Butler (1) и *Blastocladia* Reinsch (1), 1 семейства и 1 порядка. Большинство хитридиомицетов обитают в воде и почве, среди них есть паразиты водорослей, высших водных растений и беспозвоночных, а также сапротрофы на растительных и животных остатках.

Представители настоящих грибов выявлены из зигомицетов, сумчатых, базидиомицетов и группы Anamorphic fungi, телеоморфы которых относятся к Ascomycota и Basidiomycota.

К зигомицетам относятся 35 видов из 11 родов, относящихся к 4 семействам и 1 порядку. Из мортирелловых – 2 вида р. *Mortierella* Coem., а из муковых по 1 виду из родов *Helicostylum* Corda, *Thamnidium* Lk., *Absidia* Tiegh., *Actinomucor* Schostak., *Cunninghamella* Matr., *Syncephalastrum* J.Schroet. 2 вида р. *Circinella* Tiegh. & G.Le Monn. 3 вида р. *Rhizopus* Exrenb. и *Mucor* P.Micheli ex Fr. (12). Большинство зигомицетов ведут наземный образ жизни и являются сапротрофами в почве, на растительных и животных остатках. Типичными представителя являются муковые грибы, являющиеся обитателями почв, а также вызывающих гнили семян, пищевых продуктов.

Сумчатые грибы включают 293 вида относящихся к 76 родам из 47 семейств, 18 порядкам. На основании наличия или отсутствия плодовых тел и способах их образования составлена таксономия аскомицетов. В цикле развития имеют две стадии: совершенную телеоморфу и конидиальную – анаморфу. К сумчатым грибам относятся экономически значимые семейства: Тафриновые (Taphrinales), мучнисторосяные (Erysiphales) грибы, возбудитель парши семечковых культур (Venturiaceae), альтернариоза (анаморфа Pleosporales) и многие другие вызывающие болезни растений. Многие виды аскомицетов в стадии анаморфы паразитируют на различных растениях, вы-

зывают опасные заболевания. Большая часть аскомицетов, особенно в стадии телеоморфы, обитают как сапротрофы в почве, на растительных остатках. Некоторые представители имеют значимое экономическое значение как продуценты антибиотиков, ростовых веществ (гиббереллинов) и др. К голосумчатым относятся 4 вида *Taphrina* Fr.

Большой вклад в изучении сумчатых грибов, в частности мучнисторосяных грибов внес профессор П.Н.Головин. Наряду с изучением видового состава, П.Н.Головин выявил закономерности распределения грибов в зависимости от эколого-климатических условий, сезона года и вертикальных поясов. Нами была проведена ревизия мучнисторосяных грибов Узбекистана (табл. 1).

Табл. 1. Список и таксономия мучнисторосяных грибов Узбекистана

Leotiomycetes	Erysiphales	Erysiphaceae	<i>Erysiphe</i> R.Hedw. ex DC.	16
			<i>Microsphaera</i> Lev.	13
			<i>Blumeria</i> Golovin ex Speer	1
			<i>Arthrocladiella</i> Vassilkov	1
			<i>Golovinomyces</i> (U.Braun) V.P.Gelyuta	12
			<i>Podosphaera</i> Kunze	3
			<i>Sphaerotheca</i> Lev.	18
			<i>Phyllactinia</i> Lev.	7
			<i>Leveillula</i> G.Arnaud	9
			<i>Sawadeae</i> Miyabe	2
			<i>Uncinula</i> Lev.	5
			<i>Uncinuliella</i> R.Y.Sheng & G.O.Chen	1

К базидиальным грибам относятся 354 вида из 21 рода, 13 семейств, 6 порядков. К основным группам базидиомицетов относятся возбудители известных и очень опасных болезней растений: ржавчина (Pucciniales) и головня (Ustilaginales, Urocystidales, Tilletiales) (табл.2)

К несовершенным грибам, согласно классической системы Саккардо, относятся гифальные и целомицетные грибы представители которых приводятся в данной работе. Включает в группу дейтеромицетов или Anamorphic fungi 521 вид из 88 родов, 3 семейств, 3 порядкам. Основные семейства светлоокрашенные (Moniliaceae) и темноокрашенные (Dematiaceae) гифальные грибы. У некоторых дейтеромицетов конидиальное спороношение отсутствует, такие виды образуют склероции, или существуют в виде стерильного мицелия (Agonomycetales). К целомицетам относятся виды входящие в состав меланкониальных и пикнидиальных грибов. Меланкониальные грибы включают в себя представителей 19 видов из 7 родов. Из пикнидиальных грибов выявлено 308 видов из 20 родов (табл. 3).

Среди дейтеромицетов известны как сапротрофы, обитающие в воде, почве, на растительных и животных остатках, так и паразиты, развивающиеся на вышших растениях, реже на животных. Дейтеромицеты

являются причиной многочисленных болезней сельскохозяйственных культур, приводящих к большим потерям урожая.

Изучению вертицилезного вилта культурных и сельскохозяйственных растений Узбекистана посвящены работы профессора С.С.Рамазановой. Под ее руководством были продолжены микобиотические работы. Юг Узбекистана изучали Е.С.Салиева, Х.Х.Нуралиев, Ферганскую долину – Ю.Гаффаров. Отдельные исследования были посвящены макромицетам Узбекистана. Работы в данном направлении были начаты М.Халиковой, которая помимо изучения состава грибов, их биоэкологии, рекомендовала также технологию производства съедобных грибов.

ВЫВОДЫ:
В настоящее время, микобиота Узбекистана включает в себя 1124 вида из 149 родов, 114 семейств и 41 порядка, относящихся к филумам Oomycota, Chytridiomycota, Monoblepharidimycota, Blastocladiomycota, Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota и Anamorphic fungi (Deuteromycota).

Табл. 2. Список и таксономия базидиальных грибов Узбекистана

Pucciniomycetes	Pucciniales	Pucciniastraceae	<i>Hyalopsora</i> Magnus	1
			<i>Pucciniastrum</i> G.H.Otth	1
			<i>Melampsora</i> Castagne	19
		Coleosporiaceae	<i>Chrysomyxa</i> Unger	1
		Uropyxidaceae	<i>Tranzschelia</i> Arthur/	1
		Phragmidiaceae	<i>Phragmidium</i> Link	11
			<i>Trachyspora</i> Fuckel	1
			<i>Gymnoconia</i> Lagerh.	1
		Pucciniaceae	<i>Gymnosporangium</i> R.Hedw. ex DC.	4
			<i>Uromyces</i> (Link) Unger	56
			<i>Puccinia</i> Pers.	146
			<i>Miyagia</i> Miyabe ex Syd. & P.Syd.	1
Ustilaginomycetes	Ustilaginales	Ustilaginaceae	<i>Ustilago</i> (Pers.) Roussel.	45
			<i>Tranzscheliella</i> Lavrov	1
		Anthracoideaceae	<i>Anthracoidea</i> Bref.	6
			<i>Tolyposporium</i> Woronin ex J.Sroet.	1
Microbomycetes	Microbotryales	Microbotryaceae	<i>Sphacelotheca</i> DB	12
Ustilaginomycetes	Urocystidales	Glomosporiaceae	<i>Thecaphora</i> Fingerh.	1
		Urocystidaceae	<i>Urocystis</i> Raben. ex Fuckel	18
Exobasidiomycetes	Tilletiales	Tilletiaceae	<i>Tilletia</i> Tul. & C.Tul.	11
	Entylomatales	Entylomataceae	<i>Entyloma</i> DB.	16

Список литературы

1. Ячевский А.А. Основы микологии – Л., Гос.изд. к. и с., 1933 – 1635 с.

2. Флора грибов Узбекистана. в VIII т. – Ташкент, 1983-1991

3. Shukhrat Kamilov, Mukhiddin Mamiev, Samad Utaganov, Lola Babajanova. Taxonomy of the mycobiota of phytopatogenic fungi of Uzbekistan. E3S Web of Conferences 284, 03019 (2021), TPACEE-2021 // <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202128403019>

4. Камилов Ш.Г., Нуралиев Х.Х., Саттарова Р.К., Хакимов А.А. История развития микологических и фитопатологических исследований в Узбекистане. Микология и фитопатология, 2020, т.54, №5 – с.313-319.

5. Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Staples J. A. and others. Ainsworth & Bisby’s dictionary of the fungi / 10th ed. – CABI Europe – UK, 2008 -772 p.

6. McLaughlin D.J., Spatofora J.W. The Mycota. Systematics and Evolution. Part A. – N.Y.-London, 2014- 461 p.

Табл. 3. Список и таксономия выявленных несовершенных грибов

Deuteromycetes	Hyphomycetales	Moniliaceae	<i>Halobysusus</i> Zucal	1
			<i>Monilia</i> Bonord.	4
			<i>Oospora</i> Wallr.	3
			<i>Geotrichum</i> Link	1
			<i>Cephalosporium</i> Corda	11
			<i>Acremonium</i> G.Arnaud ex Cif.	2
			<i>Trichoderma</i> Pers.	4
			<i>Aspergillus</i> P.Micheli ex Link	33
			<i>Penicillium</i> Link	70
			<i>Acrostalagmus</i> Corda	1
			<i>Gliocladium</i> Corda	8
			<i>Scopulariopsis</i> Bainier	3
			<i>Botrytis</i> P.Micheli ex Pers.	3
			<i>Sporotrichum</i> Link	7
			<i>Spicaria</i> Harting	5
			<i>Verticillium</i> Nees	14
			<i>Sepedonium</i> Link	3
			<i>Gonatobotrys</i> Corda	1
			<i>Mycogone</i> Link	1
			<i>Arthrobotrys</i> Corda	13
			<i>Trichotecium</i> Link	2
			<i>Cephalodiplosporium</i> Kamyschko	1
			<i>Dactylium</i> Nees	1
			<i>Golovinia</i> Mekht.	5
			<i>Dactylaria</i> Sacc.	3
			<i>Dactylariopsis</i> Mekht.	1
			<i>Dactylella</i> Grove	1
			<i>Candelabrella</i> Rifai & R.C.Cooke	1
			<i>Kafiaddina</i> Mekht	1
			<i>Nematophagus</i> Mekht.	2
			<i>Monacrosporium</i> Oudem.	1
			<i>Helicoon</i> Morgan	1
			<i>Bacillispora</i> Sv.Nilson	1
			<i>Lunulospora</i> Ignold	1
			<i>Centrospora</i> Neerg.	1
			<i>Anguillospora</i> Ignold	6
			<i>Tetracladium</i> De Wild.	2
			<i>Tetrachaetum</i> Ingold	1
			<i>Triscelophorus</i> Ingold	1
			<i>Campylospora</i> Ranzoni	1
			<i>Dendrospora</i> Ingold	1
			<i>Tetracrium</i> Henn.	1
			<i>Alatospora</i> Ingold	1
			<i>Heliscus</i> Sacc.	1
			<i>Trichophyton</i> Malmsten	1
			<i>Ovularia</i> Sacc.	16
			<i>Pseudovularia</i> Speg.	1
			<i>Mastigosporium</i> Riess	2
			<i>Ramularia</i> Unger	68
			<i>Didymaria</i> Corda	5
			<i>Tricladium</i> Ingold	2
			<i>Botryosporium</i> Corda	1

		Dematiaceae	<i>Aureobasidium</i> Viala & G.Boyer	1
			<i>Hormiscium</i> Kunze	4
			<i>Papularia</i> Fr.	1
			<i>Coniosporium</i> Link	7
			<i>Torula</i> Pers.	8
			<i>Chalara</i> (Corda) Rabenh.	2
			<i>Nigrospora</i> Zimm.	3
			<i>Stachybotrys</i> Corda	2
			<i>Humicola</i> Traaen	2
			<i>Botryotrichum</i> Sacc. & Marchal	1
			<i>Hormodendrum</i> Bonord.	1
			<i>Gonytrichum</i> Nees & T.Nees	1
			<i>Dicoccum</i> Corda	1
			<i>Polythrincium</i> Kunze	1
			<i>Cladosporium</i> Link	23
			<i>Fusicladium</i> Bonord.	9
			<i>Scoliotrichum</i> Kunze	2
			<i>Clasterosporium</i> Schwein.	1
			<i>Murogenella</i> Goos & E.F.Morris	1
			<i>Curvularia</i> Boedijn	1
			<i>Heterosporium</i> Klotzsch ex Cooke	6
			<i>Napicladium</i> Thum	2
			<i>Helmintosporium</i> Link	3
			<i>Bipolaris</i> Shoemaker	9
			<i>Brachysporium</i> Sacc.	1
			<i>Cercospora</i> Fresen.	19
			<i>Ragnhildiana</i> Solheim	1
			<i>Alternaria</i> Nees	15
			<i>Acrospeira</i> Berk. & Broome	1
			<i>Fumago</i> Pers.	1
			<i>Coniothecium</i> Corda	9
			<i>Sporidesmium</i> Link	5
			<i>Stemphylium</i> Wallr.	13
	Tuberculariales	Tuberculariaceae	<i>Fusarium</i> Link	36
Agonomycetes	Agonomycetales		<i>Rhizoctonia</i> DC.	3
			<i>Sclerotium</i> Fuckel	3
Coelomycetes	Melanconiales	Melanconiaceae	<i>Colletotrichum</i> Corda	1
			<i>Cylindrosporium</i> Scc.	7
			<i>Gloeosporium</i> Desm. et Mont.	4
			<i>Marsonina</i> P.Magn.	3
			<i>Melanconium</i> Link	1
			<i>Microstroma</i> Niessl.	1
			<i>Steganosporium</i> Corda	2
	Sphaeropsidales	Sphaeropsidaceae	<i>Ascocheta</i> Libert.	13
			<i>Aposphaeria</i> Berk	1
			<i>Asteroma</i> DC	10
			<i>Camarosporium</i> Shulz.	22
			<i>Coniothurium</i> Corda	33
			<i>Cytospora</i> Fries.	19
			<i>Dendrophoma</i> Sacc.	1
			<i>Diplodina</i> Westendor	6
			<i>Hendersonia</i> Berkley	15
			<i>Macrophoma</i> Berl. et Vegl.	2
			<i>Melasmia</i> Lev.	5
			<i>Piggotia</i> Bern	1
			<i>Phoma</i> Fr.	45
			<i>Phomopsis</i> Sacc.	1
			<i>Phyllosticta</i> Phors et Desm.	41
			<i>Pleospora</i> Walloroth	2
			<i>Rhabdpsora</i> Mont.	13
			<i>Septoria</i> Fr.	66
			<i>Sphaeropsis</i> Lev.	4
			<i>Staganospora</i> Sacc.	8

КОНТРОЛЬ ЗА ПОЯВЛЕНИЕМ ПИРИКУЛЯРИОЗА ПШЕНИЦЫ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

Коломиец Т.М., Панкратова Л.Ф.

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии (ВНИИФ),
Большие Вяземы

Обеспечение продовольственной безопасности территорий Российской Федерации приобретает все большую актуальность, становясь одной из ключевых проблем глобального характера. Основным вопросом в решении этой проблемы является контроль биобезопасности стратегически важных сельскохозяйственных культур, предусматривающий необходимость новых современных подходов к популяционно-генетическим исследованиям. Одной из таких важнейшей продовольственных культур с мировой площадью посевов 222 миллиона гектаров и объемом урожая зерна 779 миллионов тонн является пшеница, которая из-за изменения климата подвержена болезням, распространяющимся быстрее, чем несколько лет назад [1].

Во ВНИИ фитопатологии на протяжении нескольких десятилетий проводится контроль за появлением новых видов, рас и генов вирулентности, необходимый для обеспечения продовольственной безопасности и опережающей селекции на иммунитет к вредоносным болезням. В результате многолетних исследований получены результаты структуры популяций и динамики генов вирулентности возбудителя пирикуляриоза – одного из самых опасных фитопатогенов на рисе, определены эффективные гены устойчивости в различных регионах России, создана коллекция рас патогена, маркированная генами вирулентности [2, 3, 4].

В последние годы гриб *Magnaporthe oryzae*, вызывающий пирикуляриоз на рисе, стал серьезной угрозой для производства пшеницы в теплых и влажных регионах мира [1]. Первые случаи пирикуляриоза на пшенице были зарегистрированы в 1985 году на юге Бразилии. В последующие годы новое заболевание распространилось на другие районы Бразилии и соседние страны. Поначалу болезнь не вызывала серьезных потерь урожая, но в 1996 году случилась эпидемия в Боливии, в 2002 году — в Парагвае, в 2007 — в Аргентине. Эти эпидемии уничтожили до 70–80% урожая зерна. В 2016 году пирикуляриоз пшеницы вышел за пределы Южной Америки, заразив посевы в Бангладеш [5, 6]. По прогнозам специалистов, пирикуляриоз пшеницы продолжает распространяться в странах, которые ранее пострадали лишь незначительно (Аргентина, Замбия, Бангладеш) или совсем не был зарегистрирован (Уругвай, Центральная Америка, юго-восток США, Восточная Африка, Индия и восточная Австралия). В Европе, за исключением Италии, юга Франции, Испании, а также Восточной Азии, теплых и влажных регионов юго-восточного Китая возможность появления пирикуляриоза пшеницы незначительная [1]. В Российской Федерации отмечена вероятность появления эпифитотийно опасной болезни пшеницы на юге страны, в частности в Ставропольском крае [7].

Переход паразитов на новых хозяев происходит не так часто, а когда происходит, то может приводить к внезапному появлению и стремительному распространению новых опасных заболеваний [8, 9]. Именно это и произошло, когда фитопатогенный гриб *M. oryzae* освоил пшеницу в качестве нового хозяина. Однако, известно, что некоторые его штаммы поражают и многие другие злаки, как культурные, так и дикие. Для пшени-

цы этот паразит был не опасен до самого недавнего времени.

Японские и американские генетики выявили ключевое генетическое изменение, позволившее паразиту перейти на нового хозяина. Ученые обнаружили, что растения пшеницы, у которых была утрачена функция одного из генов устойчивости *Rwt3* и *Rwt4*, были восприимчивы к пирикуляриозу. Поэтому первые вспышки пирикуляриоза пшеницы в Бразилии произошли из-за широкого культивирования сорта пшеницы Анауак, лишённого гена *Rwt3* [5]. Открытие двух генов устойчивости пшеницы к пирикуляриозу и их связь с другими, например геном устойчивости растений к мучнистой росе *Pm24*, имеет огромное значение для понимания генетической основы специфичности пирикуляриоза пшеницы [7].

В мировой науке известно много случаев поражения пшеницы возбудителем пирикуляриоза. Болезнь поражает пшеницу на разных стадиях онтогенеза растений, начиная с появления молодых всходов и заканчивая формированием колоса. У пораженных растений на листьях и зернах образуются круглые, бурые пятна с черными центральными точками. Это приводит к уменьшению урожайности и ухудшению качества зерна [10].

Для подтверждения подобного явления во ВНИИ фитопатологии проводятся исследования по изучению способности вирулентных штаммов, выделенных с риса, заражать районированные сорта пшеницы. С этой целью отобраны вирулентные коллекционные штаммы *M. oryzae*, выделенные с растений риса и ими последовательно инокулированы районированные сорта пшеницы.

В результате заражения растений пшеницы 6 высоковирулентными коллекционными штаммами возбудителя *M. oryzae* получено 12 реизолатов патогена, выделенных с растений пшеницы, которые были изучены по морфолого-культуральным признакам, репродуктивной способности и генотипу вирулентности в сравнении с исходными культурами согласно международным методам [11, 12]. С этого момента была начата селекция штаммов возбудителя *M. oryzae* для заражения растений пшеницы.

Наши исследования подтвердили возможность поражения пшеницы вирулентными коллекционными штаммами *M. oryzae*, выделенными с риса. Но тип поражения пшеницы отличался низким уровнем развития и низким % поражения растений. Реизолаты с зараженной пирикуляриозом пшеницы незначительно отличались по морфолого-культуральным признакам от исходной культуры. В большинстве случаев полученные изоляты сохраняли репродуктивную способность на уровне исходного штамма. Только у реизолатов, выделенных от зараженных растений пшеницы штаммами ХС-45мет и ХС-78сем, наблюдалось увеличение, а у штамма КП-8 - уменьшение этой способности.

Изоляты, выделенные с растений пшеницы характеризовались меньшей вирулентностью. В коллекционных штаммах возбудителя *M. oryzae*, использованных в исследованиях идентифицировано от 14 до 17 генов вирулентности из 23 изученных. Реизолаты с пшеницы

имели в своем геноме от 11 до 15 генов вирулентности. В большинстве случаев в реиолятах с пшеницы не выявляются гены вирулентности *Av-m⁺*, *Av-ta⁺* и *Av-12⁺*. Исключение составил штамм ХС-45мет, у которого при заражении растений пшеницы проявились новые гены вирулентности, отличные от генов исходной культуры. Возможность проявления дополнительных генов вирулентности может произойти либо в результате мутаций, либо в результате половой рекомбинации, что может привести к появлению высоковирулентных рас и возникновению эпифитотий [13].

Культуры гриба *Magnaporthe oryzae*, выделенные с пораженных после инокуляции растений пшеницы представляют интерес для селекции вирулентных штаммов, способных поражать второго хозяина – растения пшеницы, а также для опережающей селекции на иммунитет риса и пшеницы к пирикулярриозу. Кроме того, результаты исследований подчеркивают необходимость мониторинга генов вирулентности в популяциях патогена, контроль за появлением новых видов, рас и генов вирулентности в глобальном масштабе для предотвращения эпифитотийных ситуаций в регионах возделывания риса и пшеницы.

Исследователи международной организации СИММУТ получили в результате селекции устойчивые к пирикулярриозу сорта пшеницы, возделывание которых и использование в качестве источников устойчивости в селекции на иммунитет к пирикулярриозу будет способствовать, в сочетании с правильно выбранными агротехническими методами, сроками посева и другими защитными мерами, предотвращению возможности возникновения эпифитотий [4].

Список литературы

1. <https://dzen.ru/a/Zbx6NgGYlBgiDj5J>
2. Коломиец Т.М., Панкратова Л.Ф. Внутривидовая изменчивость возбудителя пирикулярриоза риса – *M. grisea* северокавказской популяции по генотипу вирулентности // Материалы 10-ой Международной научно-практической конференции «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем». / ФГБНУ ВНИИБЗР, г. Краснодар (11-14 сентября 2018 г.). – 2018. – С. 339 - 342.

3. Коломиец Т.М., Жемчужина Н.С., Киселева М.И., Пахолова Е.В., Глинушкин А.П. Роль генофонда Государственной Коллекции фитопатогенных микроорганизмов ВНИИ фитопатологии в обеспечении научных исследований // Материалы Пятого Съезда Микологов России (12-14 октября 2022 г., г. Москва), в сборнике: Современная микология в России. – 2022. – Т 9. – стр. 10-12. doi: 10.14427/cmr.2022.ix.01.

4. 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.

5. https://elementy.ru/novosti_nauki/433054/Genetiki_vvyasnilo_proiskhozhdenie_novoy_bolezni_pshenitsy

6. Yoshihiro Inoue, Trinh T. P. Vy, Kentaro Yoshida, Hokuto Asano, Chikako Mitsuoka, Soichiro Asuke, Vu L. Anh, Christian J. R. Cumagun, Izumi Chuma, Ryohei Terauchi, Kenji Kato, Thomas Mitchell, Barbara Valent, Mark Farman, Yukio Tosa. Evolution of the wheat blast fungus through functional losses in a host specificity determinant // Science. 2017. V. 357. P. 80–83.

7. <https://glavagronom.ru/news/intensivnaya-selekcija-stalaprichinoy-razvitiya-pirikulyarioza-na-pshenice-issledovanie>

8. https://elementy.ru/novosti_nauki/431898/V_dolgosrochnom_eksperimente_zafiksirovano_poetapnoe_formirovanie_evolyutsionnogo_novshestva

9. https://elementy.ru/novosti_nauki/431001/Tsepnaya_reaktsiya_vidoobrazovaniya

10. <https://rynok-apk.ru/articles/plants/bolezni-pshenitsy/>

11. Коваленко Е.Д. и др. Методические указания по оценке устойчивости сортов риса к возбудителю пирикулярриоза. – Мюб 1988. – 29 с.

12. Yamada M., Kiyosawa S. et al. Proposal of a new method for differentiating race of *Pyricularia oryzae* Cav. in Japan // Ann. Phytopathol. Soc. Jap. -1976. – Vol. 42, N 2. – P. 216-219.

13. <https://www.agroxxi.ru/zhurnal-agroxxi/fakty-mneniya-kommentarii/genomnyi-nadzor-nuzhen-dlja-vyjavleniya-novyh-opasnyh-shtamov-pirikulyarioza-pshenicy.html>

МУЧНИСТОРОСЯНЫЕ ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ НА ТЕРРИТОРИИ ЗАКАЗНИКА «ЦНЯНСКИЙ»

Кориняк С.И., Миркина Е.В., Андрухович А.К., Карачун В. А.

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск
Средняя школа № 93 г. Минска.

Голубой жемчужиной Советского района города Минска (Республика Беларусь) является Цнянское водохранилище с островом-заказником «Цнянский». Заказник предназначен для поддержания видового разнообразия, как флоры, так и фауны острова. Одним из аспектов сохранения видового разнообразия флоры является оценка фитосанитарного состояния, в частности, определение видового состава грибов, вызывающих болезни древесных, кустарниковых и травянистых растений. Среди заболеваний встречаются растения с белым налетом на поверхностях листьев, причиной возникновения которого являются мучнисторосяные грибы, оказывающие отрицательное влияние на их развитие. Поэтому выявление видового состава данной группы грибов, и, по возможности разработка мер борьбы с ними имеет существенное значение для сохранения высших растений Заказника «Цнянский». Ботанические

исследования проводились в вегетационный период 2023 года маршрутно-поисковым методом. При сборе, обработке, гербаризации материала и определении видового состава микромицетов, использованы общепринятые методы [1, 2]. Название нижеприведенных видов грибов, а также их синонимы отвечают требованиям международной микологической базы данных Index fungorum [3]. Для уточнения видовых названий растений использована монография Н.Н. Цвелева [4], а также электронная база данных Tropicos [5]. Далее приведен список выявленных видов грибов и их синонимов с указанием растения-хозяина.

Erysiphe knautiae Duby, Bot. Gall., Edn 2 (Paris) 2: 870 (1830). *Erysiphaceae* [6, 7, 8].

На листьях *Knautia arvensis* (L.) Coult. (*Caprifoliaceae*). Минск, Советский р-н, Заказник «Цнянский», эко тропы 1, смешанный лес.

Erysiphe trifolii Grev., Fl. Edin.: 459 (1824). Syn.: *Microsphaera trifolii* (Grev.) U. Braun, Nova Hedwigia 34 (3 & 4): 685 (1981). *Erysiphe martii* Lév., Annls Sci. Nat., Bot., sér. 3 15: 166 (1851). *Microsphaera martii* (Lév.) Y.S. Paul & V.K. Thakur, J. Econ. Taxon. Bot., Addn Ser. 26: 53 (2006). *Erysiphaceae* [2, 6, 7, 8].

На листьях *Lupinus polyphyllus* Lindl. (*Fabaceae*). Инвазионный. Эко тропы 1, 2, смешанный лес.

На листьях *Robinia pseudoacacia* L. (*Fabaceae*). Инвазионный. Эко тропы 1, смешанный лес.

Golovinomyces cichoracearum (DC.) V.P. Heluta [as 'cichoraceorum'], Ukr. bot. Zh. 45 (5): 62 (1988). Syn.: *Erysiphe cichoracearum* DC., in Lamarck & de Candolle, Fl. franç., Edn 3 (Paris) 2: 274 (1805). *Alphitomorpha communis* var. *cichoracearum* Wallr., Verh. Ges. nat. Freunde Berlin 1 (1): 31 (1819). *Erysiphaceae* [7].

На листьях *Solidago canadensis* L. (*Asteraceae*). Инвазионный. Эко тропы 1, смешанный лес.

Microsphaera alphytoides Grif et Maubl. Bull. Soc. mycol. Fr. 28 (1): 103 (1912). Syn.: *Erysiphe alphytoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam., Schlechtendalia 4: 5 (2000). *Erysiphe quercina* Schwein. [as 'quercinum'], Trans. Am. phil. Soc., New Series 4 (2): 270 (1832). *Microsphaera quercina* (Schwein.) Griffiths, Bull. Torrey bot. Club 26: 144 (1899). *Erysiphe quercus* Mérat, Rev. Fl. Paris (Paris): 459 (1843). *Phyllactinia quercus* (Mérat) Homma, J. Fac. agric., Hokkaido Imp. Univ., Sapporo 38 (3): 415 (1937). *Oidium quercinum* Thüm., J. Sci. math. phys. nat. Lisboa, 1 Ser. 6 (nos 21–24): 233 (1878). *Oidium alphytoides* Griff. & Maubl., Bull. Soc. mycol. Fr. 26: 137 (1910). *Erysiphaceae* [2, 6, 7].

На листьях *Quercus robur* L. (*Fagaceae*). Эко тропы 1, 2, смешанный лес.

Microsphaera ornata U. Braun. Mycotaxon 14 (1): 370 (1982). *Erysiphe ornata* (U. Braun) U. Braun & S. Takam., Schlechtendalia 4: 12 (2000). *Microsphaera ornata* var. *europaea* U. Braun, Mycotaxon 16 (2): 422 (1983). *Microsphaera europaea* (U. Braun) V.P. Heluta, Mycol. Phytopathol. 19 (2): 123 (1985). *Erysiphe ornata* var. *europaea* (U. Braun) U. Braun & S. Takam., Schlechtendalia 4: 12 (2000) *Erysiphaceae* [7].

На листьях *Betula pubescens* Ehrh. (*Betulaceae*). Эко тропы 1, смешанный лес.

Oidium monilioides (Nees) Link, in Willdenow, Sp. pl., Edn 4 6 (1): 121 (1824). Syn.: *Acrosporium monilioides* Nees, Syst. Pilze (Würzburg): 53 (1816) [1816–17]. *Erysiphaceae* [2, 6, 7, 8].

На листьях *Heliathus tuberosus* L. (*Asteraceae*). Инвазионный. Эко тропы 2, смешанный лес.

Phyllactinia mali (Duby) U. Braun, Feddes Repert. Spec. Nov. Regni veg. 88 (9–10): 657 (1978) [1977]. Syn.: *Erysiphe mali* Duby, Bot. Gall., Edn 2 (Paris) 2: 869 (1830). *Sphaerotheca mali* (Duby) Ellis & Everh., in Ellis & Everhart, N. Amer. Pyren. (Newfield): 6 (1892). *Erysiphe pyri* Castagne, Cat. Pl. Mars.: 190 (1845). *Phyllactinia pyri* (Castagne) Homma, J. Fac. agric., Hokkaido Imp. Univ., Sapporo 38 (3): 412 (1937). *Erysiphe cerasi* Castagne, Cat. Pl. Mars.: 191 (1845). *Erysiphaceae* [7, 8].

На листьях *Crataegus submalis* L. (*Rosaceae*). Потенциально инвазионный. Эко тропы 2, смешанный лес.

Sawadae bicornis (Wallr.) Homma, J. Fac. agric., Hokkaido Imp. Univ., Sapporo 38 (3): 371 (1937). Syn.: *Alphitomorpha bicornis* Wallr., Verh. Ges. nat. Freunde Berlin 1 (1): 38 (1819). *Erysiphe bicornis* (Wallr.) Link, Sp. pl., Edn 4: 112 (1824). *Erysiphe bicornis* (Wallr.) Fr., Syst. mycol. (Lundae) 3 (1): 244 (1829). *Uncinula bicornis* (Wallr.) Lév., Annls Sci. Nat., Bot., sér. 3 15: 153 (1851). *Erysiphaceae* [7, 8].

На листьях *Acer platanoides* L. (*Sapindaceae*). Эко тропы 1, смешанный лес.

Sphaerotheca plantaginis (Castagne) L. Junell, Svensk bot. Tidskr. 60: 382 (1966). Syn.: *Podosphaera plantaginis*

(Castagne) U. Braun & S. Takam., Schlechtendalia 4: 31 (2000). *Erysiphe plantaginis* Castagne, Cat. Pl. Mars.: 188 (1845). *Erysiphaceae* [2, 6, 7, 8].

На листьях *Plantago major* L. (*Plantaginaceae*). Эко тропы 2.

Uncinula adunca (Wallr.) Lév., Annls Sci. Nat., Bot., sér. 3 15: 151 (1851). Syn.: *Erysiphe adunca* (Wallr.) Fr., Syst. mycol. (Lundae) 3 (1): 245 (1829). *Alphitomorpha adunca* Wallr., Verh. Ges. nat. Freunde Berlin 1 (1): 37 (1819) [2, 7, 8].

На листьях *Salix caprea* L. (*Salicaceae*). Эко тропы 2, смешанный лес.

В результате проведенных ботанико-микологических исследований с признаками присутствия мучнисторосяных грибов отмечено 10 видов растений из 8 семейств. На данных растениях идентифицировано 10 видов микромицетов из 9 родов. Полученные данные показывают, что мучнисторосяные микромицеты в заказнике «Цнянский» вызывают заболевания, которые являются потенциально опасными для высших растений. Некоторые растения, интродуцированные из других регионов мира, способны мигрировать в дикую среду, внедряясь в луговые и лесные сообщества, становясь инвазионными. Вместе с ними в окружающую среду мигрируют и фитопатогенные микромицеты, которые в местной флоре также являются чужеродными или инвазионными. Поведение фитопатогенов в растительных сообществах может быть непредсказуемо, а последствия инвазии и дальнейшее распространение патогенов катастрофично. Вполне вероятно, что оказавшись в новых благоприятных для себя условиях, патогенные грибы не специфичные для местных условий обитания, способны вызывать поражения аборигенных растений, приводя к возникновению эпифитотий и вымиранию популяций как дикорастущих растений, так и посевов сельскохозяйственных угодий. Поэтому, в настоящее время возникает необходимость дополнительных исследований: выявление видового разнообразия патогенных грибов, оценка фитопатологической ситуации и, по возможности, разработка и проведение защитных мероприятий, имеющих существенное значение для сохранения видового разнообразия сосудистых растений аборигенной флоры на данной охраняемой территории.

Образцы пораженных растений смонтированы на листах формата А3 и хранятся в гербарии MSK-F лаборатории микологии Института экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, а их дуплеты – в кабинете биологии средней школы № 93 г. Минска.

Список литературы

1. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии / В.И. Билай. – 1-е изд. – Киев: Наукова думка, 1982. – 518 с.
2. Бенуа К.А. Паразитные грибы Якутии / К.А. Бенуа, Е.И. Карпова-Бенуа. – Новосибирск: Наука, 1973. – 336 с.
3. Kirk, P.M. Index of fungi / P.M. Kirk // The global fungal nomenclator [Electronic resource]. – The CABI, 2003–2004. – Mode of access: <http://indexfungorum.org/> – Date of access: 17.03.2024.
4. Цвелев, Н.Н. Определитель сосудистых растений северо-западной России. – Ленинград: 2000. – 781 с.
5. Shaw Boulevard – Saint Louis Missouri. Missouri botanical garden. – Mode of access: <http://www.tropicos.org/> – Date of access: 07.03.2024.
6. Морочковский С.Ф. и соавт. Определитель грибов. Аскомицеты; под общ. ред. Д.К. Зерова. – 1-е изд. К: Н.Д., 1969. – Т. 2. – 696 с.
7. Гелюта В.П. Флора грибов. Мучнисторосяные грибы. – К: Н.Д., 1989. – 256 с.
8. Головин П.Н. Мучнисторосяные грибы, паразитирующие на культурных и полезных растениях – Москва-Ленинград: Академия наук СССР, 1960. – 267 с.

МОРФОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР НЕКОТОРЫХ ЧУЖЕРОДНЫХ ДЛЯ БЕЛАРУСИ АЛЬТЕРНАРИОИДНЫХ ГИФОМИЦЕТОВ В УСЛОВИЯХ АНТАГОНИЗМА

Корзан И.В., Федюшко И.А.
Белорусский государственный университет, Минск

Альтернариоидные гифомицеты – это группа тёмноокрашенных микромицетов, которая включает в себя виды с муральными конидиями, реже фрагмоконидиями, схожими с грибами р. *Alternaria* Nees s.l. Они широко распространены в фитоценозах, обладают высокой экологической и трофической пластичностью [1].

Среди данной группы можно выделить множество субстратспецифичных видов из секции *Porri poda Alternaria*, среди которых *A. calendulae*, *A. dauci* и *A. solani* являются чужеродными для микобиоты Беларуси [2].

Различные заболевания культурных растений, вызванные этими тремя фитопатогенными видами, наносят большой ущерб широкому кругу *пищевых*, *цветочно-декоративных* и *лекарственных растений* [1]. Одним из экологических способов борьбы с ними является применение биологических препаратов на основе ризоферных PGPR-бактерии, а также почвенных микромицетов. В работе Федюшко И.А. [3], в которой показано угнетающее влияние бактерий р. *Bacillus* на некоторые альтернариин, указывается также эффект защиты этих микромицетов, в условиях антагонизма: увеличение интенсивности конидиогенеза при высоком уровне ингибирования роста колоний. Данный факт послужил основанием начать изучение изменчивости фитопатогенных микромицетов в условиях антагонизма.

Целью данной работы является изучение изменчивости морфо-биологических характеристик чистых культур некоторых фитопатогенных альтернариин из секции *Porri* в условиях антагонизма.

В качестве объектов исследования были выбраны изоляты чистых культур чужеродных для микобиоты Беларуси фитопатогенных грибов р. *Alternaria* секции *Porri*: *A. calendulae*, *A. dauci*, *A. solani* из коллекции грибов кафедры ботаники биологического факультета БГУ. В качестве антагонистов были использованы два штамма бактерий *B. subtilis* 494, *B. subtilis* 8 из коллекции кафедры микробиологии биологического факультета БГУ, которые по результатам исследования [3] обладали выраженными антагонистическими характеристиками.

Табл. 2. Морфологическая характеристика колоний

Конидии	Хламидоспоры	Характер края, его цвет	Форма	Окраска поверхности колонии	Воздушный мицелий	Строение	Параметры	
–	–	Ровный, полупрозрачный	Круглая	Поверхность полупрозрачная, центр оливковый	Отсутствует	Бархатистое	Контроль	<i>A. calendulae</i>
–	–	Ризоидный, полупрозрачный	Неправильная	Полупрозрачная	Отсутствует	Бархатистое	<i>B. sub.494/</i> <i>B. sub. 8</i>	
+	+	Ровный, светлый край	Круглая	Темно-зеленая	По всей пов-ти	Бархатистое	Контроль	<i>A. dauci</i>
–	+	Ризоидный, серый	Неправильная	Темно-зеленая, практически черная	По всей пов-ти	Войлочное	<i>B. sub.494/</i> <i>B. sub. 8</i>	
–	–	Ровный, светло-зеленый	Круглая	Темно-зеленая, светлеет к краю колонии	В центре и по краю	Бархатистое	Контроль	<i>A. solani</i>
–	+	Ровный, темно-зеленый	Круглая	Темно-зеленая, центр светло-зеленый	По краю	Паутинистое	<i>B. sub.494/</i> <i>B. sub. 8</i>	

Для выявления морфо-биологической изменчивости был использован метод отсроченного антагонизма [4]. Культуры бактерий высевали кольцом (d=4 см) на заранее подсушенную питательную среду, культивировали при 25±1 °С в течение суток. По истечении 24 ч. в центр сформировавшегося бактериального кольца вносили микромицет. Параллельно засевали контрольные чашки с грибами без бактерий. Далее культивирование осуществляли при 23 ± 1 °С. На 7-е сутки учитывали диаметр колонии (в мм). Повторность эксперимента трёхкратная. В качестве питательной агаризованной среды был использован картофельно-морковный агар (КМА), который является оптимальным для роста и развития грибов р. *Alternaria* [1].

Морфология колоний была описана в соответствии со схемой, приведённой в методических указаниях [4]. Статистическую обработку данных (тест ANOVA на уровне значимости $p\geq0.05$) проводили, используя программное обеспечение PAST 4.12b.

В результате эксперимента было установлено, что штаммы *B. subtilis* 494 и *B. subtilis* 8 обладают значительным ингибирующим эффектом в отношении ко всем трем микромицетам ($p<0.05$) (таблица 1).

Табл. 1. Влияние бактерий рода *Bacillus* на вегетативный рост колоний грибов

Название вида	Контроль	<i>B. subtilis</i> 494	<i>B. subtilis</i> 8
	Диаметр колонии микромицета ± SD, мм		
<i>A.solani</i>	56±6,1	18±3,8*	19±3,1*
<i>A.calendulae</i>	56±1,2	8±2,8*	9±1,5*
<i>A.dauci</i>	53±4,4	13±2,3*	12±1,8*

Примечание: * – статистически значимые различия ($p<0.05$)

Выбранные нами биоагенты угнетают вегетативный рост фитопатогенов: приводят к изменению морфоло-

гии колоний, а также влияют на конидиогенез. Кроме того, было отмечено, что микромицеты формируют множество хламидоспор на гифах субстратного мицелия в ответ на воздействие штаммов-антагонистов.

Данные о морфологии колоний приведены в таблице 2. Поскольку влияние штаммов *B. subtilis* 494 и *B. subtilis* 8 приводило к идентичным изменениям в морфологии колоний микромицетов, они представлены в одной графе.

Анализируя полученные данные, можно отметить, что бактерии *B. subtilis* 494 и *B. subtilis* 8 в большей степени влияли на изменение следующих параметров: строение и форма колонии, окраска ее поверхности, а также характер края.

В опытных чашках *A. calendulae* и *A. dauci* фитопатогены отличались от контрольных колониями неправильной формы, а у *A. solani* – имели округлую форму, как в контроле, так и в условиях антагонизма.

Колонии *A. calendulae* в контрольных чашках отличались от экспериментальных более плотным расположением прозрачного мицелия. Во многих случаях реверзум колонии у *A. solani* и *A. dauci* был окрашен интенсивнее в темно-зеленый цвет, в сравнении с контролем. Данный факт может свидетельствовать о том, что фитопатоген таким образом защищается от воздействия бактерий путём активной меланизации мицелия.

Формирование хламидоспор и вакуализация мицелия отмечены во всех экспериментальных чашках с *A. dauci*, а также в колониях *A. solani*, развивавшихся в условиях антагонизма.

Конидиогенез был обнаружен только в контрольных чашках *A. dauci*. При этом в опытных чашках количество конидий визуально заметно снижено. Кроме того, вследствие неравномерного деления клеток корпуса конидий, форма митоспор была деформирована (отмечено вздутие клеток, вакуолизация). Все остальные штаммы альтернатив на момент учёта результатов конидий не сформировали. Это может быть связано с тем, что крупноспоровые виды «неохотно» споруют на КМА.

Таким образом, было установлено, что *B. subtilis* 494 и *B. subtilis* 8 сильно угнетают рост, а также влияют на изменение морфологии колоний всех трёх фитопатогенов: изменчивость формы края, меланизация мицелия. Для *A. dauci* показано угнетение конидиогенеза, а также деформация тел конидий в условиях антагонизма. Кро-

ме того, нами отмечен факт усиления хламидоспорообразования для *A. solani* и *A. dauci*. На наш взгляд данный эффект является механизмом защиты микромицетов от биоагентов, а также одним из способов сохранения фитопатогена в почве.

Работа выполнена на кафедре ботаники БГУ в 2023–2024 гг. в рамках ГПНИ 10 «Природные ресурсы и окружающая среда», подпрограммы 10.2 «Биоразнообразие, биоресурсы, экология», задания 10.2.02 «Проблемы биологических инвазий и паразитарных угроз в природных и антропогенно-трансформированных экосистемах», НИР «Инвазивные фитопатогенные грибы, грибоподобные организмы и беспозвоночные животные на культивируемых и близкородственных дикорастущих растениях: статус в сообществах, распространение, диагностика» (№ ГР 20211704).

Список литературы

1. Ганнибал, Ф.Б. Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria*: метод. пособие / Всерос. научно-исслед. ин-т защиты растений. – СПб, 2011. – 71 с.
2. Поликсенова, В.Д. Чужеродные фитопатогенные микромицеты Беларуси / В. Д. Поликсенова, А. К. Храмцов // Вестник БГУ Сер. 2. – 2015. – №3. – С. 43–47.
3. Федюшко И.А. Эффективность бактерий *Bacillus subtilis* как антагонистов фитопатогенных грибов р. *Alternaria* Nees // «Биотехнологии микроорганизмов» посвящённой профессору Ю. К. Фомичеву (1929-2015): сборник материалов международной научно-практической конференции, УО «Белорусский государственный университет», г. Минск, 27-29 ноября 2019 г. / Бел. гос. Ун-т; под ред. В.М. Романчук. – Минск: БГУ, 2019. – С. 208–211.
4. Методические указания к занятиям спецпрактикума по разделу «Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов» для ст. 4 к. дн. отд. специальности «Г 31 01 01 – Биология» / Авт.-сост. В. Д. Поликсенова, А. К. Храмцов, С. Г. Пискун. – Минск: БГУ, 2004. – 36 с.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ДРЕВЕСИНЫ ПОГИБШИХ ОТ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ЛИСТВЕННИЦ НОРИЛЬСКОГО ПРОМЫШЛЕННОГО РАЙОНА (НПР)

Козлова М.В.¹, Волков П. В.², Камзолкина О.В.¹

¹ – МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

² – ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Загрязнение, которое производят объекты металлургической промышленности, одна из важнейших проблем в мире. Помимо предотвращения вредных выбросов в окружающую среду, и совершенствования методов утилизации отходов, в последнее время активно развивается направление ремедиации по восстановлению экосистем, нарушенных вследствие работы металлургических объектов. Поиск микроорганизмов, способных расти в экстремально загрязненной среде и

утилизировать разного рода отходы, является одной из первоочередных задач при разработке методов ремедиации, адаптированных к конкретным природным условиям и воздействию определенных типов загрязнений промышленных предприятий.

Большие сложности возникают при восстановлении экосистем в условиях Крайнего Севера, так как в условиях стабильно низких температур и многолетней мерзлоты самовосстановление нарушенных земель

либо крайне замедлено, что не позволяет им при постоянном негативном воздействии успевать самовосстанавливаться, либо самовосстановление невозможно в принципе (1). Так как экосистемы Крайнего Севера имеют огромное значение в глобальном масштабе, а производство металлов и добыча руд играют важную роль в экономике ряда районов Крайнего Севера, ремедиация является ключом к устойчивому развитию регионов в сочетании с охраной экосистем.

На территории НПП вблизи металлургических объектов сохраняется множество погибших от загрязнения деревьев (ориентировочно в 1940-х-1960-х гг), не разлагающихся до настоящего времени, очевидно, вследствие отсутствия условий для развития микроорганизмов, способных разрушать эту древесину. В рамках комплексной экспедиции 2021 г, организованной НКО «Фонд Полярных исследований «Полярный Фонд», на территории НПП, были обнаружены отдельные экземпляры погибших лиственниц с признаками гниения древесины.

В настоящей работе мы провели исследование образцов гниющей древесины на загрязнение тяжелыми металлами, а также выделение в культуру и исследование древоразрушающей и сопутствующей микобиоты. Были исследованы 5 образцов гниющей древесины (бурая и смешанные гнили). Из биоматериала выделено более 40 изолятов грибов (как древооразрушающих базидиомицетов, так и их сопутствующей биоты). Все выделенные культуры способны активно расти при 5-6°C. Определение проводили по морфологическим признакам и по 18S рРНК. Исследование показало, что среди выделенных базидиомицетов преобладают агарикоидные грибы сем. *Pleurotaceae*, выделены также трутовые грибы. Были исследованы культуральные свойства всех изолятов и получено плодonoшение. Был также изучен их рост *in situ*, на исходных образцах древесины.

Преобладание представителей сем. *Pleurotaceae*, в частности, *Postreatus* является ожидаемым, т.к. данный вид известен своей устойчивостью в сильном загрязнении, в частности, к загрязнениям тяжелыми металлами (2-4). Кроме того, из данных образцов древесины был выделен ряд штаммов дрожжей, являющихся неотъемлемой частью микобиоты гниющей древесины. Важно отметить значительное количество токсоцист и ловчих колец в выделенных культурах базидиальных грибов, что говорит об активном использовании ими в питании совместно проживающие организмы (5-7).

Интересной особенностью выделенных изолятов *Postreatus* оказалось то, что их базидии несли преимущественно не по 4 споры, как обычно бывает у представителей данного вида (8), а по 2-3. В целом, отмечено существенное отклонение числа спор на базидиях от нормы, что указывает на существенную роль вторично гомоталличного жизненного цикла у исследованных изолятов. Доказательством этого также служит наличие 2-ядерных базидиоспор (изредка, и с большим числом ядер), разнообразные типы ориентации веретен деления ядер в процессе мейоза. Такая особенность может быть следствием нарушения работы генов, отвечающих за транспортные системы ядер (микротрубочковый цитоскелет и связанные с ним белки). Однако такие нарушения можно рассматривать одновременно и как адаптацию. Гомоталлический жизненный цикл описан для ряда видов грибов, обитающих в экстремальной среде. Генетически это также имеет подтверждение в виде уменьшения генетического разнообразия в условиях, близких к пределам выживания вида, так как лишь не-

большое количество вариантов генома способно обеспечить выживание в столь экстремальных условиях. Т.е. идет естественный отбор преимущественно стабилизирующего характера, что обеспечивает максимальное сохранение комплекса родительских адаптивных признаков в последующих поколениях, и в меньшей степени – появление новых комбинаций (9).

Выделенные в рамках данной работы штаммы являются перспективными во-первых, для использования в качестве агентов для ремедиации как в монокультуре, так и в комплексе друг с другом, во-вторых, как продуценты каталитически активных целлюлаз и гемицеллюлаз, для утилизации целлюлозосодержащих отходов. Планируется дальнейшее исследование выделенных изолятов и разработка препаратов для ремедиации территорий, загрязненных объектами металлургической промышленности в условиях Крайнего Севера.

Благодарности:

Авторы благодарят НКО «Фонд Полярных исследований «Полярный Фонд» и лично Чилингарова А.Н. и Минкина А.А. за организацию сбора образцов на территории НПП, а также Козлова А.В. за предоставленные образцы.

Список литературы

1. Самозаращение нарушенных земель Севера. 2014 / Ред. Л.П. Капелькина, О.И. Сумина. С.-Пб.: BBM. 207 с.
2. Geris, R.; Malta, M.; Soares, L.A. et al. (2024). A Review about the Mycoremediation of Soil Impacted by War-like Activities: Challenges and Gaps. *J. Fungi*. 10:94. DOI: 10.3390/jof10020094
3. Kulshreshtha S, Mathur N, Bhatnagar P. (2014) Mushroom as a product and their role in mycoremediation. *AMB Express*. Apr 1;4:29. doi: 10.1186/s13568-014-0029-8. PMID: 24949264; PMCID: PMC4052754.
4. Ray, M.K., Panda, J., Panda, B.P., Mohanta, T.K., Mohanta, Y.K. (2023). Mycoremediation of Heavy Metals and/or Metalloids in Soil. In: Sarma, H., Joshi, S. (eds) *Land Remediation and Management: Bioengineering Strategies*. Springer, Singapore. DOI: 10.1007/978-981-99-4221-3_8
5. Hibbett D.S., Thorn R.G. (1994) Nematode-trapping in *Pleurotus tuberregium*, *Mycologia*, 86:5, 696-699, DOI: 10.1080/00275514.1994.12026471
6. Tsuneda A., Thorn R.G. 1996. Interactions of wood decay fungi with other microorganisms, with emphasis on the degradation of cell walls. *Canadian Journal of Botany*. 73(S1): 1325-1333. DOI: 10.1139/b95-394
7. Kamzolkina O.V., Grishanina A.N., Pancheva E.V., Volkova V.N., Kozlova M.V. Micromorphological features of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel. and *P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. strains in pure and binary culture with yeasts. *Tsitologiya*. 2006;48(2):153-60. Russian. PMID: 16737183.
8. Consensus Document on the Biology of *Pleurotus* spp. (Oyster Mushroom) // OECD Environment, Health and Safety Publications. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology. – Environment Directorate Organisation for Economic Co-operation and Development. Paris, 2005. – №34. – 31 p.
9. Kis-Papo T., Kirzhner V., Wasser S. P., Nevo E. Evolution of genomic diversity and sex at extreme environments: Fungal life under hypersaline Dead Sea // *PNAS*. 2003. Vol. 100. No 25. pp. 14970-14975.

ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ КОРНЕПЛОДОВ ЦИКОРИЯ

Козырева А.М., Кокаева Л.Ю., Еланский С.Н.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Цикорий корневой (*Cichorium intybus* L.) является значимой сельскохозяйственной культурой. Из его корнеплодов производят лечебно-диетический напиток, после переработки из них получают ценный пребиотик инулин, фруктозо-олигосахаридные сиропы, кристаллическую фруктозу [1]. Однако эта ценная культура подвержена корневым гнилям, что может привести к повреждению до 40-50% корнеплодов [2]. В настоящее время в России отсутствуют зарегистрированные препараты для защиты цикория от болезней [3].

Цель данного исследования – изучение видового состава, патогенности и восприимчивости к фунгицидам штаммов грибов, выделенных из пораженных корнеплодов цикория, выращенных в Ярославской и Костромской областях.

Определение нуклеотидных последовательностей участка ядерных рибосомных генов (ITS1-5,8S-ITS2) показало принадлежность выделенных изолятов грибов 8 видам: *Boeremia exigua* (Desm.) Aveskamp, Gruyter & Verkley, *Botrytis cinerea* Pers., *Chlamydocium cyanophilum* Zare & W. Gams., *Paraphoma chrysanthemicola* (Hollós) Gruyter, Aveskamp & Verkley, *Penicillium* sp., *Plectosphaerella cucumerina* (Lindf.) W. Gams, *Sclerotinia nivalis* I. Saito, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.

Оценку патогенности проводили в лабораторных условиях в чашках Петри, в которые помещали ломтики здоровых корнеплодов цикория и клубней топинамбура. В центр ломтика клали агаровый блок с мицелием гриба. Топинамбур так же, как и цикорий, принадлежит к семейству сложноцветных и накапливает в клубнях полисахарид инулин. Тесты показали, что наиболее патогенными и для цикория, и для топинамбура были *Penicillium* sp., *Boeremia exigua* и *Sclerotinia sclerotiorum*. *Botrytis cinerea* показал слабую патогенность по отношению к тестируемым ломтикам цикория и сильную – к ломтикам топинамбура. *Sclerotinia nivalis* и *Plectosphaerella cucumerina* паразитировали исключительно на топинамбуре, не заражая цикорий. *Chlamydocium cyanophilum* и *Paraphoma chrysanthemicola* оказались непатогенными для обеих тестируемых культур. Из литературы известно, что первый из них является почвенным сапротрофом [4], а второй может присутствовать в тканях растения в качестве эндофита [5].

Оценку устойчивости к фунгицидам проводили на чашках Петри с питательной средой (КГА) с добавлением разных концентраций фунгицидов (1, 10 и 100 мг/л) боскалид (препарат Кантус) и флудиоксонил (препарат Максим). В качестве контроля использовали ту же среду без добавления фунгицида. Эти фунгициды были отобраны в связи с тем, что в некоторых странах, например во Франции, они зарегистрированы в качестве средств защиты цикория от паразитических грибов [6]. Боскалид принадлежит к классу карбоксамидов – ингибиторов цикла трикарбоновых кислот у широкого спектра грибов [2,7]. Флудиоксонил, фунгицид из класса фенилпирролов, также подавляет рост многих грибных патогенов и широко используется для защиты

сельскохозяйственных культур [2,8]. Чтобы сравнить эффективность фунгицидов, на основании результатов эксперимента были рассчитаны значения EC_{50} (концентрация фунгицида, уменьшающая радиальный диаметр колонии гриба на 50% относительно бесфунгицидного контроля).

Боскалид эффективно подавлял рост *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. nivalis*, *Boeremia exigua* ($EC_{50} < 1$ мг/л), немного более устойчивым был штамм *Botrytis cinerea* ($EC_{50} = 6.6$ мг/л). *Penicillium* sp. и *Plectosphaerella cucumerina* оказались устойчивыми к боскалиду; их рост при концентрации 100 мг/л слабо отличался от контроля. Флудиоксонил оказался эффективнее боскалида, он эффективно ингибировал радиальный прирост колоний всех протестированных видов (*Boeremia exigua*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium* sp., *Sclerotinia nivalis*, *S. sclerotiorum* – $EC_{50} < 1$ мг/л; *Plectosphaerella cucumerina* – $EC_{50} = 8.8$ мг/л).

В то же время были выявлены штаммы, способные к активному росту на среде с концентрацией фунгицидов 100 мг/л (*Plectosphaerella cucumerina* в присутствии обоих фунгицидов, *Penicillium* sp. в присутствии боскалида). Это показывает, что для эффективной защиты цикория необходимо исследовать другие химические и биологические средства защиты растений.

Список литературы

1. Вьютнова О. М., Новикова И. А. Хозяйственное значение и целебные свойства культуры цикория .Овощи России. – 2018. – №. 5. – С. 65-66.
2. Смирнова И. В., Вьютнова О. М., Максимова К. С. Агрохимические приемы повышения устойчивости корнеплодов цикория корневого к корневым гнилям .Известия федерального научного центра овощеводства. – 2022. – № 3-4. – С. 82.
3. «Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешённых к применению на территории Российской Федерации», по состоянию на 09.11.23.
4. Zare R., Gams W. More white Verticillium-like anamorphs with erect conidiophores .Mycological Progress. – 2016. – T. 15. – №. 10-11. – С. 993-1030.
5. Sun W., Feng M., Zhu N., Leng F., Yang M., Wang Y. Genomic Characteristics and Comparative Genomics Analysis of the Endophytic Fungus *Paraphoma chrysanthemicola* DS-84 Isolated from *Codonopsis pilosula* Root .Journal of Fungi. – 2023. – T. 9. – №. 10. – С. 1022.
6. Каталог средств защиты растений, удобрений и питательных сред, разрешенных во Франции <https://ephy.anses.fr/> (дата обращения 04.02.24).
7. Stammler G., Brix H.D., Nave B., Gold R., Schoeffl U. Studies on the biological performance of boscalid and its mode of action .Modern fungicides and antifungal compounds V: 15th International Reinhardtsbrunn Symposium, Friedrichroda, Germany – 2008. – С. 45-51.
8. Zhou F., Hu H.-Y., Song Y.-L. et al. Biological characteristics and molecular mechanism of fludioxonil resistance in *Botrytis cinerea* from Henan province of China .Plant disease. – 2020. – T. 104. – №. 4. – С. 1041-1047.

ЛЕКТИНЫ В ДИАГНОСТИКЕ АСКОМИЦЕТНОГО ПАТОГЕНА, ВЫЗЫВАЮЩЕГО ПИЩЕВЫЕ ОТРАВЛЕНИЯ ЧЕЛОВЕКА: ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ МИЦЕЛИЯ *V. SOROKINIANA*

Лахтин В.М.¹, Лахтин М.В.¹, Байракова А.Л.¹,
Мелихова А.В.², Давыдкин В.Ю.¹

¹Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва;
²Институт системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва

К лектинам (Л) относятся распознающие и образимо связывающие углеводы белки (в том числе в составе активных лектиновых комплексов) не иммуноглобулиновой природы и отличающиеся от ферментов углеводного обмена, связывающие углеводы активным центром [1, 2]. Для Л установлена специфичность не только к простым углеводам и моно- и дисахаридам, но и тонкая специфичность (к гликанам, олигосахаридам и гликопептидам) и сверхтонкая в отношении высокомолекулярных природных и синтетических гликоконъюгатов (ГК) таких как гликопротеины, протеогликаны, полисахариды, липополисахариды или гликолипиды), в том числе к экспонированным и внутримолекулярным углеводным остаткам в ГК, что делает панели Л удобными экспресс-инструментами выявления особенностей углеводной части мишеней [1-4].

Метод непрямой иммунофлуоресценции, в том числе с использованием иммуноглобулинового сэндвича, позволяет с высокой чувствительностью проявлять связавшиеся с клетками микроорганизмов Л [5]. При этом нет необходимости конъюгировать Л с флуорохромом, а достаточно иметь универсальный флуорохромный реактив-проявитель, например, флуоресцеинизотиоцианат(ФИТЦ)-IgG осла или козы к IgG кролика (вторые антитела в иммунном сэндвиче), специфически связывающий первые антитела класса IgG к Л. Однако, метод часто применяется для качественной оценки (по четырехкратной общепринятой шкале) связывания Л по интенсивности флуоресценции (Фл).

Источниками пищевых отравлений человека могут быть такие фитопатогены как возбудители корневой гнили, темно-бурой пятнистости листьев и чернозародышевости семян зерновых культур. К таким фитопатогенам относится *V. sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker. Однако набор цитохимических методов выявления/ диагностики *V. sorokiniana* и других аскомицетных патогенов остается ограниченным [6-8].

Цель исследования - разработать метод количественной иммуносэндвичевой Фл связывания панели Л с поверхностью аскомицетного патогена и оценить перспективы Л из зародышей семян пшеницы (ЛЗСП) и Л из семян фасоли (ЛСФ) - значимых для пищевого производства растений для диагностики пулов ГК патогена и в связи с защитой злаков от фитопатогена на примере *Bipolaris sorokiniana* – возбудителя пищевых отравлений человека.

Материалы и методы

Использовались собственные препараты ЛСФ (препарат соответствует коммерческому Л из бобов фасоли – белковой форме РНА-Р [phytohemagglutinin Р, Sigma, США]) и ЛЗСП (препарат соответствует коммерческому агглютиниру из зародышей пшеницы – WGA [wheat germ agglutinin, Sigma, США]), Конканавалин А (Con А, Sigma, США), кроличьи антитела к Л (получались, как описано ранее [5]), ФИТЦ-меченые IgG осла против кроличьих IgG (НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ России) и GlcNAc (РЕАХИМ, Россия) и GalNAc (Chemapol, Чехия).

Культура гриба *V. sorokiniana* выращивалась на сусло-агаре при 27°С.

Фл препаратов гриба на предметном стекле фотографировали в люминесцентном микроскопе ЛЮАМ И-3 микроскопе с микрофотонасадкой (использовали с гамалью 3) на черно-белую негативную пленку (250 ед. ГОСТ; время экспозиции кадра составляло 5 сек) или на цветную позитивную пленку для слайдов (45 ед ГОСТ, ORVO, Германия; время экспозиции кадра - 8 мин). Для регистрации Фл (максимум Фл при 495 нм) использовали систему светофильтров ФС1-2, СС-8, БС8-2 и Ж-18. Для уменьшения фоновой Фл, обусловленной техническими особенностями прибора, использовали минимальную диафрагму микроскопа. Окрашенные мазки хранились под покровным стеклом в иммерсионном нефлуоресцирующем масле на холоде в темноте.

Результаты и обсуждение

Количественная визуализация связывания меченых флуоресцентным иммунным сэндвичем Л с мицелием аскомицетного фитопатогена *V. sorokiniana*.

Оптимизированы условия Фл мицелия *V. sorokiniana* иммунным сэндвичем со сродством к Л. Достигнута максимальная визуализация мицелия с использованием взаимодополняющих картин Фл ЛСФ и ЛЗСП. Конканавалин А (из черных бобов *Canavalia ensiformis* L) не проявлял дифференцированного/ сильно различающегося в отношении компонентов мицелия окрашивания в сравнении с картинками Фл в случаях применения ЛСФ или ЛЗСП.

Характер картины Фл мазков не менялся в течение 4 лет. Фоновая Фл при хранении препаратов несколько снижалась в результате слабого выцветания при многократном просмотре на фоне возрастания контрастности картины Фл. В таблице 1 представлены данные о Фл мицелия, связавшего ЛЗСП, с учетом контрольных обработок микрогриба на предметном стекле.

Табл. 1. Интенсивность Фл (в условных единицах) меченого иммунным сэндвичем ЛЗСП, связавшегося со стенками мицелия *V. sorokiniana*.

Вариант	Фл	Разность Фл	Критерий Стьюдента, t	Р
1	650 ± 166			
2	150 ± 57	500 ± 175	2,8	0,010
3	110 ± 51	540 ± 173	3,1	0,010
4	47 ± 29	603 ± 168	3,5	0,001
5	50 ± 30	600 ± 168	3,5	0,001
6	0	650 ± 166	3,9	0,001

Примечание. Образцы: 1= Мазок мицелия + ЛЗСП + кроличьи антитела (IgG) к ЛЗСП + (ослиные IgG-антитела к IgG кролика), меченые ФИТЦ. 2= Как в 1, но предварительно инкубируют ЛЗСП с 0,2 М специфичным к Лн сахаридом. 3= Как в 1, но без Л и без сахараида. 4= Как в 1, но без Л, сахараида и кроличьих IgG. 5= Обработка фосфатно-солевым буфером (ФСБ) рН 7,4 и (ослиными IgG-антителами к IgG кролика), мечеными ФИТЦ. 6= Обработка ФСБ. Р= достоверность различия Фл при сравнении вариантов 2-6 с вариантом 1 (число измерений - 50).

Из таблицы 1 видно, что достоверность различия Фл при выбранных оптимизированных условиях измерения свечения достигалась при сравнении со всеми полагающимися контролями.

Выводы.

Разработан метод количественной сэндвич-иммунофлуоресценции связывания Л с мицелием аскомицетного патогена на примере *B. sorokiniana* – возбудителя пищевых отравлений человека. Найдена пара Л, избирательно связывающихся с секретом, боковыми стенками и перегородками гиф фитопатогена *B. sorokiniana*. Вместе ЛЗСП и ЛСФ полезны в максимальной визуализации мицелия *B. sorokiniana*. Метод перспективен для диагностики и мониторинга ранней зараженности аскомицетным патогеном злаков, вызывающих пищевые отравления человека. Он универсален и расширяет диапазон применения количественной Фл в не только в сельскохозяйственной, но и медицинской микробиологии [9, 10].

Список литературы

1. Лахтин В.М. Лектины в исследовании белков и углеводов // Итоги науки и техники. Серия Биотехнология. Том 2: Лектины в исследовании белков и углеводов. Москва, Издательство ВИНТИ, 1987, 288 страниц. https://rusneb.ru/catalog/000200_000018_RU_NLR_INFOCOMM4_1000434486/; <https://rusist.info/book/5682669>;
2. <https://e-catalog.nlb.by/Record/BY-NLB-rr22500890000/HierarchyTree>
3. Lakhtin V.M. Biotechnological Aspects of Lectins. // In: Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry. Bog-Hansen T.C. and Kocourek Jan (Eds). St-Louis, Sigma Chemical Company, 1990. - Volume 7. – pp. 417-426.
4. Лахтин В.М. Специфичность лектинов микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. 1992. – Том 28; № 4. – С. 483-501. ISSN 0555-1099.
5. Лахтин В.М. Лектины в исследовании углеводной части гликопротеинов и других природных гликоконъюгатов // Биохимия. – 1995. – Том 60; № 2. – С. 187-217
6. Лахтин В.М., Гусева Н.И., Федуркина И.В., Чибисова В.А., Шаханина К.Л. Дифференцированное сродство патоген-

ных видов микроорганизмов к набору лектинов, определяемых сэндвич-методом с использованием флуоресцеинизотиоцианата (ФИТЦ) // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1985. – № 1. – С. 30-33.

7. Ашмарина Л.Ф. Особенности жизненного цикла возбудителя корневой гнили *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker // В книге: Современная микология в России. Том 5. Ред.: Ю.Т. Дьяков, Ю.В. Сергеев. Материалы III Международного микологического форума. Москва. 14 – 15 апр. 2015 г. Москва: Национальная академия микологии. – 2015. – Том 5. – С. 11-13. <http://www.mycology.ru/files/cmr2015vol5.pdf>

8. Байракова А.Л., Федькина Ю.А., Лахтин В.М. *Candida albicans*: комменсалы или оппортунисты // Международный научно-исследовательский журнал. – 2022. – №12 (126). — URL: <https://research-journal.org/archive/12-126-2022-december/10.23670/IRJ.2022.126.60> (дата обращения: 16.12.2022). — DOI: 10.23670/IRJ.2022.126.60 . ISSN Print 2303-9868. <https://research-journal.org/archive/12-126-2022-december/10.23670/IRJ.2022.126.60> ; <https://cyberleninka.ru/article/n/candida-albicans-kommensaly-ili-opportunisty>

9. Яруллина Л.Г., Ибрагимов Р.И., Цветков В.О., Яруллина Л.М., Шпирная И.А. Цитохимические и биохимические методы исследования микроорганизмов – возбудителей болезней растений: учебное пособие. – Уфа: РИЦ БашГУ, 2016. – 92 с. ISBN 978-5-7477. <https://www.bioufa.ru/студентам/citokhimicheskie-i-biokhimicheskie-metody.pdf>

10. Lakhtin V.M., Lakhtin M.V., Melikhova A.V., Davydkin I.Yu., Davydkin V.Yu. Bioluminescent monitoring of casein-containing media in the presence of Gram-positive bacteria // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: сборник материалов VIII Всероссийской научно-технической конференции с международным участием, посвященной Году науки и технологий, 26 ноября 2021 г. / под общ. ред. С.Г. Марданлы, В.В. Помазанова, В.А. Киселевой. – Орехово-Зуево: ГГТУ, 2021. – С. 309-312.

11. ISBN 978-5-87471-410-9. <https://izvestiya.ggtu.ru/wp-content/uploads/2021/12/sbornik-materialov-26-noyabrya-2021-1.pdf>

12. Lakhtin V.M., Lakhtin M.V., Davydkin V.Yu., Melikhova A.V., Davydkin I.Yu., Zhilenkova O.G. Enzybiotics with lectin properties and lectinbiotics with enzyme activities - multifunctional modulators of communications in organism: fundamentals and unlimited potential in food industry, biosensors and medicine // European Journal of Biology and Biotechnology (EJBIO). – 2021. - Vol. 2 (1): pp. 38-46. DOI: DOI: 10.24018/ejbio.2021.2.1.150 /150

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВРЕДНОСНОЙ МИКОБИТЫ НА СОРТАХ ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ В ТАМБОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Лавринова В.А.,¹ Жидехина Т.В.,² Полунина Т.С.¹

¹Среднерусский филиал ФНЦ им. И.В. Мичурина, п. Новая жизнь Тамб.Обл.

²ФНЦ им. И.В. Мичурина, п. Новая жизнь Тамб.Обл.

В 2020 году в Среднерусском филиале «ФНЦ им. И.В. Мичурина» проводили исследования на ягодах, боковых ветках, корневой системы (центральный корень, боковые корни, нижняя часть ствола), листьев черной смородины сортов: Тамерлан, Зеленая дымка, Чернавка, Изумрудное ожерелье, 15-14-20, 15-14-19, 15-14-29, 19-2-19, 19-5-16, 21-10-50, 23-2-79. Ягодные образцы были предоставлены отделом ягодных культур ФНЦ им. И.В. Мичурина.

1. В результате проведенного микологического анализа образцов ягоды были идентифицированы мицелий, конидии микроскопических грибов рода *Fusarium* Заболевание вызывает сухую гниль. На всех ягодах сортов черной смородины распространение возбудителя было высоким и достигало 75,0-100%, более устойчивым оказался сортобразец 15-14-19.

Следующие патогены встречались в виде конидий и грибицы на поверхности плодов смородины рода *Alternaria*. Микрогрибы с многоклеточной структурой являются возбудителями черной гнили. Распространение заболевания на генеративных органах сорта Чернавка

и сортовых образцах 15-14-29, 23-2-79 достигало 100%, незначительное снижение отмечалось в опытном образце 15-14-19 (97,5%), равнозначно на ягодах Изумрудное ожерелье и 15-14-20 (95%), чуть слабее - Зеленая дымка (90%), затем 21-10-50 (80%), далее идентично Тамерлан и образец 19-2-19 (77,5%), 19-5-16 (72,5%).

Микологический анализ плодов черной смородины выявил возбудителя рода *Gloeosporium* в конидиальной стадии. Частично распространение заболевания было слабым, к тому же патоген мог и не идентифицироваться: Чернавка (32,5%), Изумрудное ожерелье (25%), 19-5-16 (17,5%), Тамерлан (10%) 23-2-79 (2,5%), 21-10-50 (2,5%), 19-2-19 (0%), 15-14-29 (0%), 15-14-19 (0%), Зеленая дымка (0%), 15-14-20 (0%).

В результате проведенных микологических исследований ягодных образцов было установлено, что возбудителями фитопфторозной гнили являлись микромицеты р. *Phytophthora*. Представитель рода *Phytophthora*, идентифицировался в виде мицелия и ооспор, вызывая кожистую (горькую) гниль. По распространению заболевания сорта были ранжированы следующим образом: 23-2-79

(95%), 19-2-19 (85%), Тамерлан (75%), 19-5-16 (65%), 21-10-50 (62,5%), Чернавка (60%), Изумрудное ожерелье (60%), 15-14-19 (50%), Зеленая дымка (35,0%), 15-14-20 (32,5%). Сортообразец 15-14-29 (0%) был устойчив к данному фитопатогену.

Botrytis cinerea Pers. является возбудителем серой гнили многих растений (плодов, ягод). В наших исследованиях при микологическом исследовании были идентифицированы конидии, конидиеносцы, мицелий. Распространение данного вида на сортах было не стабильным (от 57,5% до нулевого значения): Зеленая дымка (57,5%), Изумрудное ожерелье (7,5%), 19-2-19 (7,5%). На остальных сортах числовой показатель отсутствовал (0%).

Rhizopus nigricans Ehrenb, возбудитель серой головчатой плесени, один из

главнейших плесневых грибов. При микроскопировании были выявлены спорангии, споры, мицелий. Патоген частично активизировался на ягодах исследуемых сортов или отмечалось его отсутствие: Чернавка (17,5%), 15-14-19 (7,5%), 15-14-29 (5,0%), 23-2-79 (2,5%), 19-5-16 (2,5%), Изумрудное ожерелье (2,5%), 19-2-19 (0%), Тамерлан (0%), 21-10-50 (0%), Зеленая дымка (0%), 15-14-20 (0%).

Также идентифицировался возбудитель бокальчатой ржавчины патогенный гриб

(*Puccinia ribis* De C), на загнившем остатке околоцветника. Распространение данного фитопатогена по сортам была таковой: 15-14-29 (37,5%), 15-14-19 (27,5%), Зеленая дымка (25%), Чернавка (22,5%), 19-5-16 (20%), Изумрудное ожерелье (20%), 21-10-50 (17,5%), 15-14-20 (17,5%), Тамерлан (15%), 23-2-79 (0%), 19-2-19 (0%).

Во всех образцах встречались мицелий, конидиеносцы и конидии плесневых грибов: пенициллиум, являющийся возбудителем зелено-голубой (*Penicillium expansum* Link)) и аспергилл (*Aspergillus P. Micheli* ex Haller) зелено-желтой плесени. Распространение фитопатогенов по сортам на основе данных представителей было ранжировано следующим образом: Зеленая дымка (70%; 30%), 15-14-19 (62,5%; 30%), Изумрудное ожерелье (52,5%; 70%), Чернавка (55%; 25%), 21-10-50 (45%; 32,5%), 19-2-19 (22,5%; 30%), 19-5-16 (35%; 5%), Тамерлан (25%; 17,5%), 15-14-29 (20%; 15%), 15-14-20 (15%; 10%), 23-2-79 (2,5%; 0%) соответственно.

Также был выявлен в виде мицелия, конидий и конидиеносцев возбудитель черной плесени микрогриб рода *Cladosporium*. Распространение данного фитопатогена оставалось не равнозначным: 19-5-16 (92,5%), 15-14-20 (85%), 15-14-29 (85%), Тамерлан (82,5%), 19-2-19 (70%), Изумрудное ожерелье (67,5%), 21-10-50 (67,5%), Чернавка (65%), 15-14-19 (27,5%), Зеленая дымка (10%), 23-2-79 (5%).

2. В результате проведенного микологического анализа спороношения, расположенного на боковых вет-

ках, корневой системе (центральный корень, боковые корни, нижняя часть ствола), листьев также были идентифицированы габитусы микромицета *Fusarium*, распространение которого составляло 91,8%, на корнях и листьях - 100%. И выделялись микрогрибы рода *Alternaria* - 100%; 66,7%; 100% соответственно. Проявление грибов рода *Phytophthora* отмечалось на вегетативных и подземных органах культуры практически на одном уровне 62,5%, 66,7%, 75,0%. Кроме вышеперечисленных возбудителей на ветках (16,7%) и листьях (50,0%) выделялся гриб *Rhizopus nigricans*. Определялись мелкоспоровые грибы рода *Cladosporium* максимально на вегетативной части растений (91,8-100%), на корнях до 33,6%. Следующим представителем плесневых микромицетов являлись грибы рода *Penicillium*, габитусы которых при микроскопировании идентифицировались с веток до 70,9% и листьев до 25,0%. Вместе с тем здесь же выделялись микромицеты рода *Ascochyta* при равнозначном распространении 25,0%. Возбудитель вертициллезного увядания выявлялся только на ветках (8,3%).

3. Что касается почвенных образцов, то максимальное сосредоточение оставалось за грибами рода *Phytophthora* (187 шт./г почвы), затем р. *Alternaria* (120 шт.), затем *Cladosporium* (107 шт.) и *Fusarium* (33 шт.). Отмечена высокая степень подавления грибов-супрессоров. В почвенных образцах выявлялись малой численностью плесневые грибы представители р. *Penicillium* (40 шт.) и полупаразитические виды *Rhizopus* (53 шт.).

В итоге, в комплексе фитопатогенов на ягоде лидирующее положение занимали микромицеты из рр. *Fusarium* (97,0%) и *Alternaria* (89,5%), несколько слабее возбудители антракнозной (65,0%) и фитофторозной (61,1%) гнилей. На ветках и листовых пластинках доминировали альтернариевые (100%), равнозначно фузариевые и кладоспориозные (95,9%) микромицеты, следующую нишу занимали фитофторозные (68,8%) микрогрибы. На корнях и нижней части ствола преобладали грибы р. *Fusarium* (100%) и равновесно рр. *Phytophthora* и *Alternaria* (89,5%). Комплекс патогенов максимально был сосредоточен на ветках (80,9%), далее на листьях (67,9%), корнях (66,7%) и несколько слабее на ягодах - 48,0%.

По отношению к комплексу идентифицированных фитопатогенов на ягодах смородины, сортовые образцы с небольшой разницей были ранжированы следующим образом: 19-2-19 (52,8%), Зеленая дымка (52,2%), 15-14-29 (51,9%), 15-14-20 (50,7%), Чернавка (48,0%), 15-14-19 (47,2%), Изумрудное ожерелье (45,7%), 19-5-16 (45,5%), 21-10-50 (45,3%), Тамерлан (45,0%), 23-2-79 (43,9%).

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ САЖИСТОЙ ПЯТНИСТОСТИ И МУХОСЕДА В ЯБЛОНЕВЫХ АГРОЦЕНОЗАХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Марченко Л.О., Подгорная М.Е.

Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства и виноделия, Краснодар

Сажистая пятнистость и мухосед (комплекс Sooty Blotch and Flyspeck (SBFS)) — это комплекс грибов, колонизирующий эпикуттикулярный восковой слой плодов яблони. Колонии, образующие темные мицелиальные маты, называются «сажистой пятнистостью, тогда

как «мухоседом» обозначают скопления блестящих, черных, круглых или овальных, склероциевидных тел без видимого мицелиального мата.

Представители комплекса SBFS встречаются по всему миру во влажных регионах с умеренным климатом.

Поражение плодов приводит к потере их качества, что может повлечь большие финансовые потери у производителей, если фрукты выращивались для продажи в свежем виде [1].

Долгое время считалось, что сажистая пятнистость и мухосед являются различными стадиями одного возбудителя - *Leptothyrium pomi* (Mont. & Fr.) Sacc. Однако на рубеже 1910-1920 годов исследователи опровергли эту версию, и основали новый род *Gloeodes* для обозначения возбудителя сажистой пятнистости яблони - *Gloeodes pomigena* (Schw.) Colby, возбудителем мухоседа остался гриб *L. pomi*, который позже был переименован в *Schizothyrium pomi* (Mont. & Fr.) Arx. И если мухосед имел однозначное проявление на плодах яблони, то при изучении сажистой пятнистости ученые отмечали значительные различия в морфологии колоний. В 1920 году Colby описывал три типа мицелия сажистой пятнистости: папоротниковидный, сотовый и сетчатый. Позже Groves переописал и переименовал типы мицелия в: разветвленный (папоротниковидный по Colby), точечный, фулигинозный (сетчатый и сотовый типы по Colby) и щелевой [2,3]. Глобальный же сдвиг в этом вопросе произошел только в 1996 году, когда Johnson и коллеги, проведя обширные исследования пришли к заключению, что сажистая пятнистость вызывается минимум тремя возбудителями (*Peltaster fructicola*, *Leptodontium elatius*, *Gaeastrum polystigmati*), каждому из которых соответствует свой тип мицелия [4]. С появлением молекулярной генетики, количество возбудителей сажистой пятнистости выросло до более 100 патогенов, мухоседа до 12, а количество морфологических типов комплекса SBFS к 2019 году расширилось до двенадцати: мухосед (flyspeck), большой мухосед (large flyspeck), компактное пятнышко (compact speck), дискретное пятнышко (discrete speck), разветвленный (ramose), сотоподобный (ridged honeycomb), точечный/крапистый (fleck), пунктирный (punctate), сажистый (fuliginous), древовидно точечный (arborescent punctate), редко разветвленный (sparse ramose) и легкий сажистый (light fuliginous) типы. Было установлено, что морфология колоний SBFS на поверхности плодов имеет постоянный характер, однако некоторые рода могут вызывать схожие симптомы [5, 6].

Не смотря на широкий круг возможных возбудителей в целом, каждая страна и каждый отдельно взятый регион обладает своим уникальным набором представителей комплекса SBFS. И среди этих представителей не все вызывают опасения одинаковой степени. В связи с чем, целью наших исследований было определить доминирующие типы мицелия сажистой пятнистости и мухоседа, и оценить частоту их встречаемости на яблоне в различных условиях Краснодарского края.

Для оценки частоты встречаемости плоды яблони, отбирались в разных зонах садоводства Краснодарского края: в Черноморской зоне, южной подзоне – с обрабатываемых и с не обрабатываемых участков; в Предгорной зоне, юго - восточной подзоне, в лесу с диких яблонь; в Прикубанской зоне, Центральной подзоны – с интактных яблонь.

Анализ плодов по мицелиальным типам показал, что в обрабатываемых садах на территории Черноморской зоны, 76% всех встречаемых колоний представлены мухоседом, 9% - компактным пятнышком, 7,4% дискретным пятнышком, 3,4% сажистым пятном, и 2,1% - разветвленным типом. На интактных плодах этого района мухосед составлял 51% от общего числа колоний, 20,1% пришлось на разветвленный тип, 10,8% - на сажистый.

Компактное и дискретное пятнышко составили 9,3% и 5,7% соответственно. Таким образом, в обрабатываемых садах Черноморской зоны, мухосед является основным и наиболее вредоносным представителем комплекса SBFS, борьба с которым наиболее затруднительна. Различия в полученных между защищаемыми и незащищаемыми деревьями данных, свидетельствуют о том, что наличие обработок в саду значительно снижает процент разветвленного и сажистого типов мицелия (с 20,1% до 2,1% и с 10,8% до 3,4% соответственно).

На интактных плодах дикой яблони Предгорной зоны мухосед составил 52,0%, компактное пятнышко – 15,2% сажистый 10,4%, пунктирный - 8,8%, разветвленный - 6,4%. Процент колоний мухоседа на дикой яблоне Предгорной зоны очень близок с показателями на необрабатываемых участках яблони Черноморской зоны. Превалирование мухоседа в этих зонах более чем в 50% может свидетельствовать, что и в условиях отсутствия пестицидного прессинга, мухосед остается наиболее конкурентоспособным, распространенным и вредоносным представителем комплекса SBFS.

На территории Прикубанской зоны, на необрабатываемых плодах яблони, 35,1% всех исследуемых колоний представлены сажистым типом мицелия, 18,8% мухоседом, 16,7% разветвленным типом, 10,5% дискретным пятнышком. Древовидно точечный тип и компактное пятнышко составили 6,3% и 5,4% соответственно. Для территории Прикубанской зоны, центральной подзоны не характерны вспышки мухоседа в обрабатываемых садах, что скорее всего связано с неподходящими условиями окружающей среды, о чем свидетельствуют и полученные данные. В Прикубанской зоне намного выше риск поражения сажистой пятнистостью (в большей степени сажистый, разветвленный типы), однако, на основании сравнительных данных между обрабатываемыми и не обрабатываемыми садами Черноморской зоны, можно предположить, что именно эти типы комплекса SBFS лучше всего регулируются пестицидными обработками. Вероятно, именно поэтому Центральная подзона Прикубанской зоны в меньшей степени подвержены вспышкам комплекса SBFS.

Несмотря на то, что тип мицелия не является достоверным инструментом для определения конкретного возбудителя, знание этой классификации позволяет сужать предполагаемый список патогенов до конкретных видов, свойственных данной симптоматике. Анализ же доминирующих типов мицелия, позволяет сконцентрировать исследования на наиболее вредоносных и распространенных представителях комплекса.

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. Groves A. B. A study of the sooty blotch disease of apples and causal fungus *Gloeodes pomigena* . Virginia Agric. Exp. Stn. Bull. –1933. –V. 50. P. – 1-43.
3. Colby A. S. Sooty blotch of pomaceous fruits . Trans. Ill. Acad. Sci. – 1920. –V.13. – P. 139-175.
4. Johnson E. M., Sutton T. B., Hodges C. S. *Peltaster fructicola*: A new species in the complex of fungi causing apple sooty blotch disease . Mycologia. – 1996. – V.88. – P. 114-120.
5. Gleason M. L., Batzer J. C., Sun G. et al. A new view of sooty blotch and flyspeck . Plant Disease. – 2011. –V. 95. – P. 368-383. DOI: 10.1094/PDIS-08-10-0590
6. Gleason M. L., Zhang R., Batzer J. C. et al. Stealth pathogens: The sooty blotch and flyspeck fungal complex . Ann. Rev. Phytopathol. – 2019. – V. 57. – P. 135-164. DOI: 10.1146/annurev-phyto-082718-100237

ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИТОВ И СУСПЕНЗИИ КЛЕТОК
FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. LYCOPERSICI
НА АДВЕНТИВНОЕ КОРНЕОБРАЗОВАНИЕ У ТОМАТА

Маслова М.В., Грошева Е.В., Шамшин И.Н.
Мичуринский государственный аграрный университет, Мичуринск

Многие микроорганизмы выделяют в ризосферную зону метаболиты, способствующие развитию корневой системы хозяина, увеличению площади поглощающей поверхности и расширению зоны питания. Использование грибов, способствующих росту растений (plant growth-promoting fungi – PGPF), в сельскохозяйственной практике является перспективным направлением и весьма актуальной проблемой [1, 2].

Как правило, в качестве PGPF используют сапротрофы, но интерес представляют так же патогенные виды различных трофических групп. Так, биотрофы в процессе патогенеза стараются поддерживать клетки хозяина в функциональном состоянии и оказывать стимулирующее действие на растение благодаря способности вырабатывать метаболиты, активизирующие его рост и развитие. Они имеют системы, позволяющие избежать защитной реакции со стороны хозяина, и используют его ресурсы для своей жизнедеятельности. Такой тип питания свойственен и гембиотрофам на ранней стадии патогенеза [3, 4], в том числе представителям рода *Fusarium*. Они продуцируют ауксины, цитокинины и гиббереллины, поэтому известны не только как опасные патогены, но и относятся к PGPF [5-13].

Fusarium oxysporum Schltdl. (*Fo*) синтезирует собственные гормоны и модулирует гормональный статус растений (накопление, метаболизм и транспорт ауксина). Это способствует поддержанию длительной бессимптомной фазы патогенеза. Несовместимые взаимодействия в системе «хозяин-паразит» при колонизации *Fo* могут иметь благотворное влияние на растения [6].

Стимуляция ростовых процессов у растения (проращение семян и пыльцы, рост пыльцевых трубок, корней и гипокотили и т.д.) отмечается не только при его контакте с живыми клетками патогена, но так же под влиянием культуральных жидкостей и их отдельных компонентов [7]. Данное обстоятельство отмечается рядом исследователей на различных моделях. Метаболиты *Fo* усиливали рост растений арабидобсиса, изменяя транспорт и сигнализацию ауксина [8]. Инокуляция *F. equiseti* способствовала росту гороха [9]. Продуцирование различных гормонов *Fo*, в том числе ауксина, который способствует растяжению растительных клеток, обеспечивало стимулирующее действие на рост корней проростков сорго после обработки культуральной жидкостью исследуемого микроорганизма [10]. На основе *F. moniliforme* получен стимулятор корнеобразования Гибберсиб, действие которого основано на способности подавлять активность гиббереллинов. Это приостанавливало рост надземной части и усиливало развитие корней [11-13].

Целью работы являлось сравнительное изучение влияния суспензии и метаболитов *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder and Hansen (*Fol*) на формирование и рост придаточных корней у черенков томата.

Воздействие микробных метаболитов и суспендированных клеток на корнеобразование у растений изучали на модели «сорт томата Черный Мавр – штамм гриба *Fol*».

С целью определения расовой принадлежности исследуемого гриба применяли молекулярно-генетический метод [14]. Экстракцию геномной ДНК гриба осуществляли с использованием набора «Проба-НК» по

протоколу производителя (Агродиагностика, РФ). Последовательности амплифицировали в приборе Simpli Amp (Applied Biosystems, США). Результаты амплификации разделялись путем электрофореза в 2% агарозном геле. Визуализацию и документирование результатов осуществляли в ультрафиолетовом свете с использованием трансиллюминатора и цифровой фотокамеры.

Для выявления характера воздействия микробных метаболитов на рост корней томата использовали фильтрат культуральной жидкости (ФКЖ) *Fol*. Его получали путем культивирования гриба в течение месяца при температуре 24°C в 200 мл жидкой питательной среды Чапека – Докса в колбах объемом 250 мл. Полученный раствор метаболитов подвергали холодной стерилизации с использованием насадок на шприц «Millipore» 0,22 µm (France). Суспензию клеток *Fol* получали путем их смывания стерильной дистиллированной водой с поверхности колоний. В раствор 10%-ного ФКЖ и суспензию грибных клеток помещали черенки томата. По мере формирования придаточных корней определяли их число и длину.

Статистическую обработку данных проводили с использованием компьютерных программ Microsoft Office Excel.

В ходе проведения исследований выявлена принадлежность штамма *Fol* из коллекции ФГБНУ ФНЦО к третьей расе. Это было определено по наличию нескольких маркеров в генотипе. Соотношение маркеров и рас отмечено в таблице 1.

Табл. 1. Определение расовой принадлежности *Fol* по наличию маркеров

Расы	Маркеры			
	<i>uni</i>	<i>sp13</i>	<i>sp23</i>	<i>sp1</i>
Paca 1	+	+	-	-
Paca 2	+	-	+	-
Paca 3	+	+	+	-

У исследуемых образцов амплифицировались фрагменты с маркерами *uni*, *sp13*, *sp23*. С маркером *sp1* продукты реакции не производились, что соответствует 3 расе *Fol* (рис. 1).

Рис. 1. Результаты амплификации анализируемых образцов: 1 - 3 – с маркером *uni* (1, 2 – анализируемые образцы 3 – отрицательный контроль); 4 - 6 – с маркером *sp13* (4, 5 – анализируемые образцы 6 – отрицательный контроль); 7 - 8 – с маркером *sp23* (7, 8 – анализируемые образцы 9 – отрицательный контроль); М – маркер молекулярного размера (шаг 100 п.н.).

Для исследования корнеобразовательной способности черенков томата инкубируемых в суспензии клеток и метаболитах *Fol3* был выбран сорт Черный Мавр, который проявил устойчивость к фузариозному увяданию при искусственном заражении корней суспензией данного штамма. В этой модели «хозяин - паразит» взаимодействия протекали по типу несовместимых.

В ходе проведения исследований выявлено стимулирующее действие суспензии и 10% раствора ФКЖ *Fol3* на рост придаточных корней у томата.

Число корней в суспензии клеток гриба на всех сроках инкубирования было на уровне контрольных значений. Но при этом их длина была вдвое больше на 6 и на 10 сутки по сравнению с вариантом, где черенки выдерживали в воде.

В растворе метаболитов *Fol3* отмечалось увеличение числа корней по сравнению с контролем. На 3 и 6 сутки разница составила 24,5%, и 18,5% соответственно. Со временем скорость формирования новых корней в ФКЖ снижалась, и на 10 сутки количество их было ниже контрольных показателей на 13,6%. Это наблюдалось в связи с активным ростом сформировавшейся корневой системы. Длина корней на 6 и 10 сутки после закладки опыта была значительно выше по сравнению с вариантами с суспензией (почти в 1,5 раза) и с водой (почти в 3 раза) (рис.2).

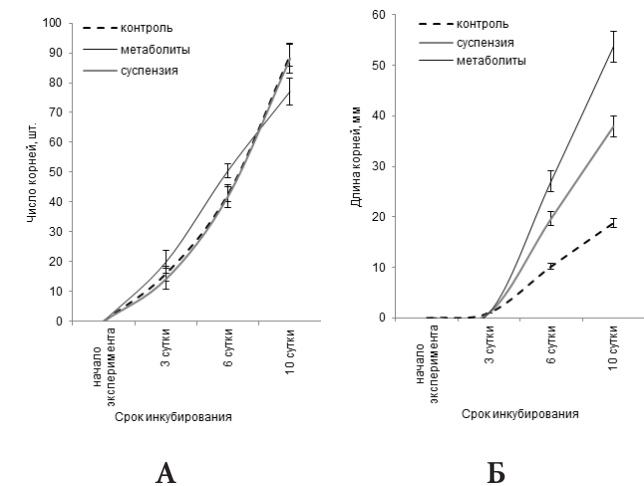


Рис. 2. Влияние суспензии клеток и метаболитов гриба *Fol3* на количество (А) и длину (Б) сформировавшихся придаточных корней у черенков томата сорта Черный Мавр.

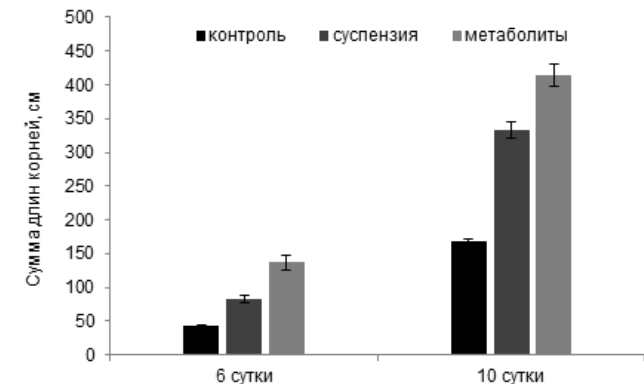


Рис. 3. Общая длина сформировавшихся придаточных корней у черенков томата сорта Черный Мавр под влиянием суспензии клеток и метаболитов гриба *Fol3*.

В связи с этим, сумма длин всех образовавшихся на черенках корней значительно различалась по вариантам. Она была максимальной при инкубировании черенков в 10%-ном растворе ФКЖ гриба *Fol3* и составила

на 6 и на 10 сутки 136,9 и 414,0 см соответственно. В суспензии клеток исследуемого гриба данный показатель был равен 82,5 и 333,9 см соответственно. В контроле – 43,4 и 167,9 см соответственно (рис.3).

В суспензии на протяжении всего эксперимента формирование новых корней у черенков томата проходило с той же скоростью, что и в воде. При этом длина корней в опытном варианте была значительно выше, чем в контроле. Наиболее развитая корневая система была у черенков томата, поставленных в ФКЖ гриба.

Данное обстоятельство объясняется тем, что в водной суспензии микробные клетки некоторое время остаются жизнеспособными. Если они не могут колонизировать клетки хозяина, то постепенно теряют свою активность, в связи с отсутствием питательного субстрата, перестают вырабатывать метаболиты и погибают, исчерпав ресурсы. В свою очередь метаболиты в ФКЖ содержат большое количество физиологически активных веществ, которые накапливаются в процессе культивирования микроорганизмов в искусственной среде богатой питательными веществами в отсутствии конкурентов.

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что патогенные микроорганизмы являются не только агентами биотического стресса у растений, но и могут использоваться для стимуляции корнеобразования у хозяина. Использование с этой целью микробных метаболитов является эффективным и безопасным, так как предотвращает бесконтрольное распространение возбудителей болезней в окружающей среде. Исследования, направленные на изучение взаимодействий между различными группами микроорганизмов и растениями позволяют выявить возможность активизации с их помощью ростовых процессов у хозяина и повысить эффективность их практического использования в качестве биоудобрений.

Список литературы

1. Бражникова Е.В., Мукашева Т.Д., Игнатова Л.В. Скрининг штаммов микромицетов, перспективных для стимуляции роста сельскохозяйственных культур . Вестник КазНУ. Серия биологическая. 2019. Т. 80. №. 3. С. 40-47.
2. Keswani C., Singh S. P., Cueto L., García-Estrada C., Mezaache-Aichour S., Glare T. R., Sansinenea E. Auxins of microbial origin and their use in agriculture . Applied Microbiology and Biotechnology. 2020. Vol. 104. P. 8549-8565.
3. Максимов И. В. Иммуитет растений и способы его повышения . Вестник Академии наук Республики Башкортостан. 2010. Т. 15. №. 3. С. 60-78
4. Чесноков Ю.В. Устойчивость растений к патогенам (обзор иностранной литературы) . Сельскохозяйственная биология. 2007. №. 1. С.16-35.
5. Turaeva B., Soliev A., Eshboev F., Kamolov L., Azimova N., Karimov, H., Khamidova, K. The use of three fungal strains in producing of indole-3-acetic acid and gibberellic acid . Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology. 2020. Vol. 21. No. 35 - 36. P. 32 - 43.
6. Di X., Takken F. L. W., Tintor N. How phytohormones shape interactions between plants and the soil-borne fungus *Fusarium oxysporum* . Frontiers in plant science. 2016. Vol.7. P.170.
7. Поликсенова В.Д. Микозы томата: возбудители заболеваний, устойчивость растений. Минск: БГУ. 2008. 159 с.
8. Bitas V., Mc Cartney N., Li N., Demers J., Kim J. E., Kim H. S., Kang, S. *Fusarium oxysporum* volatiles enhance plant growth via affecting auxin transport and signaling . Frontiers in microbiology. 2015. Vol. 6. P. 1248.
9. Šišić A., Baćanović J., Finckh M. R. Endophytic *Fusarium equiseti* stimulates plant growth and reduces root rot disease of pea (*Pisum sativum* L.) caused by *Fusarium avenaceum* and *Peyronellaea pinodella* . European Journal of Plant Pathology. 2017. Vol. 148. P. 271-282.
10. Турковская О. В., Дубровская Е. В., Голубев С. Н., Бондаренкова, А. Д., Баландина С. А., Позднякова Н. Н. Влияние почвообитающих грибов на проростки сорго веничного в присутствии полициклических ароматических углеводородов . Физиология растений. 2019. Т. 66. №. 5. С. 384-393.

11. Левшунов В. А., Самусь В. А. Стимулирование корнеобразования клоновых подвоев плодовых культур в маточнике. Земледелие и защита растений. 2019. С. 48-50.

12. Гаджиев С. Г., Драбудько Н. Н., Левшунов В. А., Самусь В. А. Стимулирование корнеобразования клоновых подвоев плодовых культур в маточнике. Земледелие и растениеводство. 2022. №. 6. С. 48-50.

13. Сундет Т. Р. Влияние биопрепаратов на здоровье почвы и сельскохозяйственную продукцию. Почвоведение и агрохимия. 2023. № 1. С. 86-104.

14. Hirano Y., Arie T. PCR-based differentiation of *Fusarium oxysporum* ff. sp. *lycopersici* and *radicis-lycopersici* and races of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Journal of General Plant Pathology. 2006. Vol. 72. P. 273-283.

ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ НА АБРИКОСАХ (*PRUNUS L.*) В НАМАНГАНСКОЙ ОБЛАСТИ, УЗБЕКИСТАН

Мустафаев И.М., Иминова М.М., Журакулов Ж.Ж., Турабоев М.Б.
Институт ботаники Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент

Абрикос (*Prunus armeniaca L.*), который в настоящее время общепризнан как фрукт китайского происхождения с более чем 3000 летней историей выращивания в Китае, широко выращивается во всем мире, благодаря раннему сезону сбора урожая и уникальному аромату, восхитительному вкусу, высокой питательной ценности и многократному использованию [1].

Абрикос – одно из наиболее широко выращиваемых плодовых деревьев в Узбекистане, раннее- и среднеспелые сорта которой очень распространены. Его в основном выращивают в Ферганской и Зеравшанской долинах, где абрикосовые плантации составляют 70–80% от общей площади садов. На сегодняшний день во всех категориях хозяйств республики сады занимают 337,3 тыс. га земель, из них 53,4 тыс. га – абрикосовые. Ежегодно всеми категориями хозяйств выращивается около 3 млн тонн фруктов, из них 463 тыс. тонн (15%) составляют абрикосы. В Узбекистане выращивают такие сорта абрикоса, как «Кандак», «Субхани», «Исфарах», «Корсак», «Рухи Джуванон», «Хурмой», «Шалах», «Юбилейный», «Навои» [2].

Плоды абрикоса обогащены β-каротином, который составляет 60–70% от общего содержания каротиноидов и придает плодам характерный оранжевый цвет [3,4]. β-каротин является основным предшественником витамина А, одного из наиболее важных функциональных ингредиентов абрикосов. Витамин А является важным питательным веществом для человека, поскольку он не может синтезироваться в организме. Таким образом, как хороший источник β-каротина, абрикосы очень полезны для здоровья человека. Считается, что лечение абрикосами и/или β-каротином эффективно предотвращает нарушения, вызванные окислительным стрессом, повреждением кишечника, вызванным метотрексатом, и нефротоксичностью [5,6].

Многочисленные почвенные и листовые патогенные грибы широко распространены во всех районах выращивания абрикосов в мире. Потери урожая варьируются от незначительных до 100%, особенно когда неблагоприятные условия окружающей среды сохраняются после посадки и во время цветения. Эффективная стратегия для борьбы с грибными болезнями абрикоса необходимы глубокие знания о возбудителях, включая их биологию, экологию и изменчивость [5,6]. Поскольку болезни абрикосов значительно снижают урожайность и, следовательно, доходы фермеров, необходимо лучшее понимание причинных факторов. Поэтому с 2021 года сотрудниками Лаборатории Микологии и альгологии Института ботаники АН РУз на основе го-

сударственной 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 Наманганской области)». 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 болезней.

Материалом для написания данного тезиса послужили гербарные образцы, собранные в результате микологических исследований, проведенных на территории Наманганской области в течение 2021-2023 гг. Наманганская область была образована 6 марта 1941 года. Площадь – 7900 км². 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.

Изучение морфологических признаков грибов проведено в лабораторных условиях с помощью бинокулярного микроскопа KERN OBN147 (Германия). Для идентификации видовой принадлежности грибов использовались соответствующие определители, монографии и научные статьи [7,8,9,10,11]. Названия грибов дано по www.indexfungorum.org [12].

В результате проведенных нами микологических исследований на абрикосовых полях в Наманганской области выявлены 5 видов патогенных грибов. Видовой состав и краткие описания этих видов приведены ниже.

Stigmina carpophila (Lév.) M.B. Ellis [12]

S. carpophila вызывает кластероспориоз косточковых фруктовых деревьев. Чаще всего поражаются абрикос, персик и нектарин. В наших приведенных весной и летом наблюдениях по листьям были разбросаны красные точки; затем они расширились до более крупных круглых поражений. Эти поражения имели некротический коричневатый центр и пурпурные края. Центральная некротическая зона постепенно сместилась и опала в результате чего образовалось отверстие. Вначале поражения представляли собой небольшие круглые пурпурно-черные пятна на поверхности пораженных частей листа. На молодых листьях пораженные участки иногда быстро разрастались и приводили к гибели больших

участков пластинки. Клястероспориоз является самым распространенным и вредоносным болезнью абрикосов в Наманганской области.

Podosphaera leucotricha (Ellis & Everh.) E.S. Salmon [12]

Болезнь поражает преимущественно листья и молодые побеги. Данное заболевание широко распространено в Учкурганской и Косонсойском районах Наманганской области, уровень заболеваемости растений составляет в среднем 3 балла (25-50%), наблюдается 100% поражение некоторых деревьев.

3. *Monilinia laxa* (Aderh. & Ruhland) Honey [12]

M. laxa впервые была обнаружена у абрикосов на территории Узбекистана в 1949 г. в Ферганской области. В исследованиях, проведенных в Наманганской области, отмечено, что *M. laxa* в основном повреждает цветки абрикоса весной. Средний уровень заболеваемости составляет 2 балла (15-20%).

4. *Cytospora leucostoma* (Pers.) Sacc. [12]

Гриб попадает через трещины, ранки, срезы и начинает размножаться. Грибница начинает увеличиваться в размере, что провоцирует высыхание ветки абрикоса. Первым признаком, на который стоит обратить внимание, является возникновения темных буторков, заметно выступающих над частью той поверхности ветки абрикоса, что была заражена. Пустулы конические или бородавчатые, под эпидермисом, позже прорывающиеся, с центральным устьищем. Стромы многокамерные или ложнокамерные. Конидии сосочковидные 3-5x1-2 мкм. Отмечено, что данное заболевание широко распространено в Наманганской области, преимущественно в старых садах. В молодых и интенсивных садах это заболевание почти не встречалось.

5. *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill., Revue mycol., Toulouse 24: 54 (1902) [12]

Ризопусная гниль, вызываемая *R. stolonifer*, является одним из важнейших послеуборочных заболеваний косточковых культур [13]. Болезнь возникает преимущественно на спелых плодах, которые более склонны к повреждениям и имеют более высокое содержание сахара. Через 2-3 дня зараженные плоды становятся мягкими и водянистыми, выделяют соки с бродильным или кислым запахом. При благоприятных температурах и влажности примерно через сутки после появления первых симптомов на поверхности зараженного плода можно наблюдать быстрый и обильный рост мицелия, при этом возбудитель образует длинные мицелиальные столоны с черными спорангиями и спорами. *Rhizopus* spp. космополитные нитчатые низшие грибы, встречающиеся в почве, гниющих фруктах и овощах и обычно встречающиеся в упаковочных цехах [14]. Этот вид

отмечен в Наманганской области на спелых, стоячих абрикосах.

Таким образом, в Наманганской области на абрикосах выявлены 5 видов фитопатогенных грибов. Из них, *S. carpophila* – возбудитель клястероспориоза является самыми распространенным и вредоносным.

Список литературы

1. Jiang F, Zhang J, Wang S. et al. The apricot (*Prunus armeniaca* L.) genome elucidates Rosaceae evolution and beta-carotenoid synthesis. *Hortic Res.* 2019 Nov 18;6: 128. doi: 10.1038/s41438-019-0215-6.
2. <https://agronews.uz/2022/05/30/abrikosovye-sady-uzbekistana>
3. Sass-Kiss A., Kiss J., Milotay P., Kerek M., Toth-Markus M. Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Res. Int.*, 38, 1023–1029 (2005).
4. Dragovic-Uzelac V., Levaj B., Mrkic V., Bursac D., Boras M. The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region. *Food Chem.* 102, 966–975 (2007).
5. Akin E. B., Karabulut I., Topcu, A. Some compositional properties of main Malatya apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties. *Food Chem.*, 2008, 939–948.
6. Ali S., Masud T., Abbasi K. S. Physico-chemical characteristics of apricot (*Prunus armeniaca* L.) grown in northern areas of Pakistan. *Sci. Horticulturae* 2011, 130, 386–392.
7. S. Soyulu M. Kara Ş. Kurt E.M. Soyulu and A. Uysal Determination of fungal and bacterial disease agents of apricot trees growing in Hatay province *Acta Hort.* 1290. ISHS 2020. DOI 10.17660/ActaHortic.2020.1290.20
8. Киргизбаева Х.М., Гапоненко Н.И., Сагдуллаева М.Ш., Рамазанова С.С., Ахмедова Ф.Г. Флора грибов Узбекистана. Т. I. Мучнисторосные грибы. – Ташкент: Фан, 1983, – 364 с.
9. Сагдуллаева М.Ш., Киргизбаева Х.М., Рамазанова С.С., Гулямова М.Г., Файзиева Ф.Х. Флора грибов Узбекистана. Т. VI. Пифальные грибы. – Ташкент: Фан, 1990. – 132 с.
10. Киргизбаева Х.М., Сагдуллаева М.Ш., Рамазанова С.С., Гулямова М.Г., Кучми Н.П., Азимходжаева М.Н., Салиева Я.С. Флора грибов Узбекистана. Т. VIII. Пикнидальные грибы. – Ташкент: Фан, 1997, – 190 с.
11. Исаева Е. В., Шестопал З. А. Атлас болезней плодовых и ягодных культур. – К.: Урожай, 1991. – 144 с.
12. www.indexfungorum.org Дата обращения 26.03.2022 г.
13. Ogawa JM, English H, 1991. Stone fruit and their diseases. In: JM Ogawa, H English, eds. *Diseases of Temperate Zone Tree Fruit and Nut Crops*. Oakland, CA, USA: University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, 125–242.
14. Snowden, A.L. (1990). *Post-Harvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables: Volume 1: General Introduction and Fruits* (1st ed.). CRC Press. DOI: 10.1201/b18214

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА *FUSARIUM* ИЗ СУХОЙ ГНИЛИ КАРТОФЕЛЯ

Николаева, А.А.¹, Хворова С.А.¹, Лутфуллин, М.Т.¹, Вологин², С.Г., Марданова¹ А.М.

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

²ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН, Казань

Картофель занимает четвертое место по значимости среди пищевых культур в России. Однако системы непрерывного выращивания картофеля приводят к снижению урожайности из-за обострений заболеваний,

передающихся через почву, и деградации почвы в результате снижения питательных веществ [Qin et al., 2022]. Одной из серьезнейших причин потери урожая картофеля является сухая гниль – распространенное после-

уборочное заболевание клубней, вызываемое *Fusarium spp* и приводящее к большому экономическому ущербу [Kema et al., 2021], а также ухудшению параметров качества урожая, таким как снижение содержания крахмала и амилозы [Tiwari et al., 2023], и накопление микотоксинов [Xue et al., 2023]. *Fusarium* также являются частью нормальной микробиоты почвы в качестве сапрофитов [Torbatí et al., 2021] и могут переключаться между сапротрофным и патогенным образом жизни в зависимости от окружающей среды [Zanne et al., 2019]. Анализ пораженности растений и распознавание представителей микобиоты беспрерывно проводится во всем мире [Tiwari et al., 2020].

Селекция сортов картофеля по генетически опосредованной устойчивости к *Fusarium sp.* является одним из экологических способов повышения урожайности. При этом сорта могут быть устойчивы к одному виду *Fusarium*, но восприимчивы к другому, поскольку результат восприимчивости-устойчивости варьируется в зависимости от вида и штаммов *Fusarium*, сортов картофеля, а также преобладающих культурных и экологических условий в разных регионах мира [Likhnenko et al., 2020].

Цель: анализ вирулентности штаммов микромицетов рода *Fusarium*, выделенных из сухой гнили клубней картофеля разных сортов.

Материалы и методы
Исследуемые штаммы микромицетов были выделены из клубней картофеля сортов Ароза, Ягодный 19, Ред Скарлет (Red Scarlett), Блоссом и гибридов, полученных из сортов коллекции ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН, с внешними признаками сухой гнили (Таблица 1).

Табл. 1. Список изолятов, выделенных из клубней разных сортов картофеля-

Сорт картофеля	Изоляты микромицетов
гибрид 2-16-2	M1, M6, M9, M10, M11
гибрид 2-19-15	M2
гибрид 2-15-2	M3
Блоссом	M7
Ароза	N1, N3, N5, N8, MG3, Наратлы 2
Ягодный 19	NS1, NS2, NS3, NS4
Red Scarlett	RS1, RS3, RS5, RS6

Для получения изолятов образец пораженной ткани клубня подвергали поверхностной стерилизации в 70% этаноле, а затем переносили на агар Чапека с добавлением молочной кислоты для подавления роста бактерий. Микромицеты культивировали при 30 °C в течение 7 дней. Скрининг микромицетов *Fusarium* по вирулентным свойствам проводили на клубнях картофеля сортов Регги, Кортни, Зумба и Догода. Клубни картофеля искусственно инфицировали мицелием 10-дневной культуры с помощью метода укола. Эксперимент проводили в 3 технических повторностях для каждого сорта. Клубни осматривали в течение 14 суток на предмет появления признаков сухой гнили, окончательные результаты снимали на 14 сутки после заражения. Степень поражения оценивали по отношению диаметра гнили к диаметру здоровой зоны клубня по методу, описанному в работе [Akosah et al., 2018]. Степень поражения клубней выражали в баллах по шкале: 9 баллов - отсутствие поражения, 7 – диаметр пораженного участка 1-25%, 5 - 25-50%, 3 - 50-75%, 1 - 75-100%.

Выделение ДНК проводили с помощью СТАВ-буфера с использованием метода СТАВ (гексадецилтримети-

ламмония бромид) [Campos et al., 2019]. Качество и полученную концентрацию ДНК проверяли на NanoDrop 2000 (Thermo, США).

Внутреннюю транскрибируемую спейсерную область (ITS) гена 5.8S рРНК и маркерный локус региона фактора элонгации трансляции 1- (TEF1) амплифицировали с помощью ПЦР из геномной ДНК с использованием праймеров ITS1 и ITS4, EF1 и EF2 соответственно (Таблица 2). ПЦР-продукты очищали с помощью коммерческих наборов FastDNA® SPIN Kit for Soil согласно протоколу производителя и секвенировали по методу Сэнгера.

Табл. 2. Праймеры, использованные в работе

Ген	Название	Последовательность
ITS гена 5S рРНК	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC
TEF1	EF1	ATGGGTAAGGARGACAAGAC
	EF2	GGARGTACCAGTSATCATG

После получения данных о последовательностях ДНК обрезку последовательностей низкого качества проводили с помощью Galaxy (<https://usegalaxy.org/>), для проведения запросов BLASTn для идентификации *Fusarium* использовали доступные через Интернет базы данных NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Статистическая обработка результатов включала расчет среднего значения (M) и стандартные ошибки среднего (±SD).

Результаты

В общей сложности из клубней картофеля с признаками сухой гнили были выделены 22 изолята микромицетов, идентифицированных на основании макро- и микроскопической морфологии как представителей рода *Fusarium*. Вирулентность изолятов оценивали по способности вызывать фузариоз клубней картофеля сортов Регги, Кортни, Зумба и Догода при их искусственном инфицировании мицелием уколом. Установлено, что степень заражения и повреждения клубней зависит как от устойчивости данного сорта картофеля, так и вирулентности фитопатогенного штамма *Fusarium*. Все двадцать два штамма *Fusarium* проявили вирулентные свойства, вызывая сухую гниль в разной степени в клубнях исследуемых сортов (Таблица 3). Сравнительный анализ результатов заражения показал, что наиболее вирулентными в отношении использованных сортов картофеля оказались штаммы N8, NS1-4, которые были выбраны для дальнейших исследований. Также были отобраны штаммы N1, N5, MG-3 и Наратлы 2 как средневирulentные и штамм N3 как слабовирulentный

Молекулярно-генетическая идентификация позволила идентифицировать до вида 10 изолятов, отобранных для дальнейших исследований (Таблица 4). Семь изолятов (N1, N3, N5, N8, NS3, MG3, Наратлы 2) были идентифицированы как *Fusarium oxysporum*, два изолята (NS1, NS4) - как *Fusarium redolens* и один (NS2) как *Fusarium solani* со степенью гомологии от 95% до 100% (Таблица 4).

Таким образом, из сухой гнили картофеля разных сортов выделены изоляты микромицетов рода *Fusarium*, идентифицированные как штаммы *F. oxysporum*, *F. solani* и *F. redolens*. Изоляты различались по способности к заражению клубней при их искусственном инфицирова-

нии. Установили, что степень заражения и повреждения клубней зависит как от вирулентности штамма, так и от устойчивости данного сорта картофеля.

Табл. 3. Средние показатели резистентности сорта

№	Изолят микромицета	Степень поражения клубней (баллы)			
		Сорт картофеля			
		Регги	Кортни	Зумба	Догода
1	M1	7.0	6.34±1.15	7.0	7.0
2	M2	7.0	5.67±2.31	7.0	7.0
3	M3	5.67±2.31	5.67±2.31	7.0	7.0
4	M6	7.0	7.0	7.0	6.34±1.15
5	M7	7.0	7.0	7.0	7.0
6	M9	5.67±2.31	7.0	7.0	7.0
7	M10	7.0	7.0	7.0	7.0
8	M11	7.0	7.0	9.0	7.0
9	N1	7.0	7.0	6.34±1.15	5.0±3.46
10	N3	7.0	7.0	7.0	7.0
11	N5	7.0	7.0	7.0	5.67±2.31
12	N8	7.0	4.34±2.31	6.34±1.15	7.0
13	NS1	5±2	4.34±2.31	5.0	7.0
14	NS2	3.0	3.67±1.15	3.67±1.15	4.34±2.31
15	NS3	5.67±2.31	5.67±2.31	7.0	7.0
16	NS4	5.67±2.31	3.67±1.15	6.34±1.15	6.34±1.15
17	RS1	7.0	6±1.41	7.0	6.34±1.15
18	RS3	7.0	7.0	7.0	5.67±2.31
19	RS5	5.67±2.31	6.34±1.15	7.0	7.0
20	RS6	7.0	7.0	7.0	5.67±2.31
21	MG3	7.0	7.0	7.0	5.0±2.0
22	Наратлы 2	7.0	7.0	7.0	5.67±2.31

Список литературы

1. Qin J., Bian C., Duan S., Wang W., Li G., Jin L. Effects of different rotation cropping systems on potato yield, rhizosphere microbial community and soil biochemical properties . Front Plant Sci. 2022. V.13:999730. doi: 10.3389/fpls.2022.999730.

2. Kema G., Drenth A., Dita M., Jansen K., Vellema S., Stoorvogel J. J. Editorial: Fusarium Wilt of Banana, a Recurring Threat to Global Banana Production . Front Plant Sci. 2021. V.11:628888. doi: 10.3389/fpls.2020.628888.

3. Tiwari R.K., Lal M.K., Kumar R., et al. Aggarwal R. Impact of Fusarium Infection on Potato Quality, Starch Digestibility, In Vitro Glycemic Response, and Resistant Starch Content . J Fungi (Basel). 2023. V.9(4). N.466. doi: 10.3390/jof9040466.

4. Xue H., Liu Q., Yang Z. Pathogenicity, Mycotoxin Production, and Control of Potato Dry Rot Caused by Fusarium spp.: A Review . J Fungi (Basel). 2023. V.9(8). N.843. doi: 10.3390/jof9080843

5. Torbati M., Arzanlou M., da Silva Santos A. C. Fungicolous Fusarium Species: Ecology, Diversity, Isolation, and Identification . Current Microbiology. 2021. V.78(8). N.2850–2859. doi: 10.1007/s00284-021-02584-9.

Табл. 4. Идентификация изолятов по гомологии генов 5.8S рРНК и TEF1

Изолят	Ген	Вид	Процент гомологии
N1	EF	<i>F. oxysporum</i>	99.85%
	ITS		100%
N3	EF	<i>F. oxysporum</i>	99.15%
	ITS		100%
N5	EF	<i>F. oxysporum</i>	100%
	ITS		100%
N8	EF	<i>F. oxysporum</i>	95.22%
	ITS		100%
NS1	EF	<i>F. redolens</i>	99.85%
	ITS		100%
NS2	EF	<i>F. solani</i>	100%
	ITS		99.61%
NS3	EF	<i>F. oxysporum</i>	99.85%
	ITS		100%
NS4	EF	<i>F. redolens</i>	99.75%
	ITS		100%
MG3	EF	<i>F. oxysporum</i>	96.16%
	ITS		100%
Наратлы 2	EF	<i>F. oxysporum</i>	100%
	ITS		100%

Работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

6. Zanne A.E., Abarenkov K., Afkhami M.E. et al. Fungal functional ecology: bringing a trait-based approach to plant-associated fungi . Biol Rev Camb Philos Soc. 2020. V.95(2). P.409-433. doi: 10.1111/brv.12570.

7. Tiwari R. K., Kumar R., Sharma S. et al. Potato dry rot disease: current status, pathogenomics and management . 3 Biotech. 2020. V.10(11). N.503. doi: 10.1007/s13205-020-02496-8.

8. Likhnenko S.V., Zangieva F.T., Morgoev T.A., Bekmurzov B.V. Ways to increase the adaptability of potato varieties in the North Caucasus . IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 2020. N.548 022038.

9. Akosah Y., Vologin S. G., Lutfullin M. T., Hadieva G. Fusarium oxysporum strains from wilting potato plants: Potential causal agents of dry rot disease in potato tubers . Crops 22. 2021. N.49–53. doi: 10.31830/2348-7542.2021.012

10. Campos M., Patanita C., Campos C. et al. Detection and Quantification of Fusarium spp. (*F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. graminearum*) and *Magnaporthe oryzae* in Maize Using Real-Time PCR Targeting the ITS Region . Agronomy. 2019. V. 9. P. 45.

КАЧЕСТВО ХРАНЕНИЯ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ КУЛЬТУР ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СЕПТОРИОЗА ПШЕНИЦЫ *P. NODORUM* И *Z. TRITICI* ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ -20°C

Пахолкова Е.В., Сальникова Н.Н.
Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии (ВНИИФ)
Большие Вяземы

Лиофилизация широко применяется в биологической практике для длительного хранения микроорганизмов. Ее действие заключается в замораживании и последующем высушивании объектов, при этом вода испаряется в условиях вакуума без оттаивания льда, что позволяет полностью сохранять первичную структуру объекта сушки. В препаратах резко замедляются или прекращаются биохимические реакции, в результате чего они становятся более устойчивыми к факторам внешнего воздействия и сохраняют первоначальные свойства в течение длительного периода хранения. Лиофилизированные культуры хранят при температуре ниже 5°C. С понижением температуры растет и сохраняемость клеток [1, 2].

Во Всероссийском научно-исследовательском институте фитопатологии лиофилизация является одним из способов длительного хранения коллекционных штаммов возбудителей септориоза *P. nodorum* и *Z. tritici*. Хранение лиофилизированных культур осуществляется в специальных морозильных камерах REVCO при температуре -80°C [3]. Параллельно в морозильных камерах бытовых холодильников с температурой примерно -20°C хранятся дубликаты штаммов. **Это удобный вариант для рабочей коллекции, позволяющий лишний раз не снимать культуры с хранения при -80°C.**

Целью исследований являлось определить максимальные сроки хранения коллекционных штаммов *P. nodorum* и *Z. tritici* в лиофилизированном состоянии при температуре -20°C, и выявить факторы, влияющие на качество хранения. Для этого была проверена жизнеспособность 254 лиофилизированных культур *P. nodorum*, хранящихся при -20°C в течение 1-10 лет и 655 культур *Z. tritici*, хранящихся в течение 1-15 лет.

Методы исследований.

Стерильные полоски фильтровальной бумаги, разложенных на поверхности картофельно-глюкозной питательной среды (КГА) в чашках Петри, засеивали споровой суспензией штаммов *P. nodorum* и *Z. tritici*. После зарастания культурой гриба полоски в стерильных условиях извлекали из чашек Петри, помещали в криопробирки и замораживали перед лиофилизацией в морозильной камере при -20°C в течение не менее 1 суток. Лиофилизацию культур проводили с помощью лиофильной сушилки марки Alpha 1-2 LDplus. Перед помещением в сушилку колпачки пробирок с содержащимися в них полосками с культурой гриба слегка откручивали для выхода влаги в процессе сушки. Режим лиофилизации: 16 ч - основная сушка, 6 ч - досушивание в глубоком вакууме, т.о. в общей сложности продолжительность лиофилизации составляла 22 ч. Высушенные таким способом культуры помещали на хранение обратно в морозильную камеру при температуре -20°C. Чтобы восстановить культуру после хранения или проверить ее жизнеспособность, от **полоски с лиофилизированной культурой отрезали небольшой фрагмент и помещали его на КГА в чашки Петри. Показателем жизнеспособности служило образование типичных колоний гриба примерно через 7-10 дней.**

Результаты исследований.

Сохраняемость штаммов *P. nodorum* в лиофилизированном состоянии при температуре -20°C была на высоком уровне: у 91,3% культур жизнеспособность подтвердилась. При этом не было значительной разницы между культурами с разной длительностью хранения: 90,2% культур были жизнеспособными при сроке хранения 1-5 лет, 92,4% - при сроке 6-10 лет. При этом для большинства культур (94,2%) есть шанс не ограничиться данным конкретным сроком хранения и остаться в жизнеспособном состоянии более длительное время. Лишь небольшая часть культур (5,8%), жизнеспособных по результатам первой проверки, не смогла преодолеть следующий временной рубеж и не восстановились при второй проверке. (таблица 1).

Табл. 1. Жизнеспособность лиофилизированных культур *P. nodorum* с разным сроком хранения при -20°C

Срок хранения	Кол-во проверенных культур	Доля жизнеспособных культур, %	Из жизнеспособных:	
			доля культур, не восстановившихся после более длительного срока хранения, %	доля культур с потенциалом на более длительный срок хранения, %
1-5 лет	122	90,2	9,5	90,5
6-10 лет	132	92,4	2,4	97,6
Всего	254	91,3	5,8	94,2

Сохраняемость штаммов *Z. tritici* при данных условиях в целом была несколько хуже: количество жизнеспособных культур при тех же сроках хранения было меньше, чем у *P. nodorum*. Так, доля жизнеспособных культур со сроком хранения 1-5 лет составляла 68,9 %, 6-10 лет – 58,1% 11-15 лет – 55,0%. Среди них не восстановились при повторной проверке 25,8 % культур. Остальные 74,2% культур имеют потенциал преодолеть более длительный срок хранения, чем тот, что был на момент проверки (таблица 2).

Табл. 2. Жизнеспособность лиофилизированных культур *Z. tritici* с разными сроками хранения при -20°C

Срок хранения	Кол-во проверенных культур	Доля жизнеспособных культур, %	Из жизнеспособных:	
			доля культур, не восстановившихся после более длительного срока хранения, %	доля культур с потенциалом на более длительный срок хранения, %
1-5 лет	367	68,9	28,7	71,2
6-10 лет	248	58,1	23,8	76,2
11-15 лет	40	55,0	4,5%	95,5
Всего	655	63,9	25,8	74,2

Таким образом, не все культуры оказались способными к выживанию при температуре -20⁰С. При этом одни штаммы уже при первой проверке имели отрицательный результат, другие, подтвердив статус жизнеспособных, не восстанавливались при последующих проверках, проведенных спустя определенное время. Одной из причин снижения жизнеспособности могла послужить продолжительность нахождения полосок с культурой гриба в морозильной камере (-20⁰С) до лиофилизации. В нашем случае это время могло составлять от 1 суток до полугода и больше, пока накопится необходимое количество материала, подлежащего лиофилизации. Предположительно при долгосрочном замораживании могла возрасти гибель клеток культуры. Анализ показал, что при длительности предварительного нахождения в морозильной камере 1 месяц число жизнеспособных культур *P. nodorum* в целом составляло 93,9%, при сроке 4-6 месяцев – 87,9%, при сроке 7-12 месяцев – 75,0%. В случае *Z. tritici* эти показатели были ниже: при сроке 1 месяц - 60,1% жизнеспособных культур, при сроке 4-6 месяцев - 44,4%, при сроке 7-12 месяцев - 58,0%. Следовательно, с увеличением времени содержания культур в морозильной камере до лиофилизации их гибель имела тенденцию к возрастанию для обоих видов гриба. У *P. nodorum* она увеличилась с 6,1 до 25,0%; у *Z. tritici* – варьировала с 30,6-39,9% до 42,0-55,6% (таблица 3).

Табл. 3. Жизнеспособность культур *P. nodorum* и *Z. tritici* в зависимости от длительности содержания их в замороженном состоянии до лиофилизации

Длительность содержания при -20 ⁰ С до лиофилизации	<i>P. nodorum</i>		<i>Z. tritici</i>	
	Количество культур	Жизнеспособные/ погибшие, %	Количество культур	Жизнеспособные/ погибшие, %
1 мес.	114	93,9 / 6,1	363	60,1 / 39,9
2-3 мес.	115	88,7 / 11,3	186	69,4 / 30,6
4-6 мес.	33	87,9 / 12,1	45	44,4 / 55,6
7-12 мес.	8	75,0 / 25,0	57	58,0 / 42,0

Выводы.

Исследования показали, что срок хранения большинства культур *P. nodorum* и *Z. tritici* в лиофилизированном состоянии на полосках фильтровальной бумаги при -20⁰С может достигать 10-15 лет и вполне вероятно может быть более длительным. Однако качество хранения штаммов возбудителей септориоза таким способом в большой степени зависит от вида гриба. Штаммы *Z. tritici* более чувствительны к лиофилизации и быстрее теряют жизнеспособность, чем культуры *P. nodorum*. Поэтому для культур данного вида гриба рекомендуется перезакладка на хранение не реже 1 раза в 5 лет. Кроме того, на жизнеспособность культур некоторое воздействие оказывает предварительное нахождение культур в морозильной камере до лиофилизации. Рекомендуется сократить его до 3-х месяцев, так как при более длительном сроке возможно постепенное снижение их жизнеспособности.

Список литературы

1.

Озерская С.М. Грибы в коллекциях культур: фундаментальные и прикладные аспекты: автореф. дис. докт. биол. наук. М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2012. 50 с.

2.

Похиленко В.Д, Баранов А.М., Детушев К.В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденция развития // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. 2009 № 4 (12), с. 99-121

3.

Goodwin S. B., Dunkle L. D., Zismann V. L. Phylogenetic analysis of Cercospora and Mycosphaerella based on the internal transcribed spacer region of ribosomal DNA // Phytopathology. – 2001. – 91. -С. 648-658.

К ВОПРОСУ О РАЗНООБРАЗИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ БОРИСОВСКОГО РАЙОНА МИНСКОЙ ОБЛАСТИ БЕЛАРУСИ

Пенькевич А.В., Храмцов А.К.
Белорусский государственный университет, Минск

Микроскопические грибы и грибоподобные организмы, поражающие дикорастущие и культивируемые растения в Беларуси, издавна привлекали к себе внимание микологов и фитопатологов, однако до настоящего времени их таксономическое разнообразие в отдельных регионах республики остается изученным лишь частично. Так, на территории Борисовского района Минской области исследования таксономического состава и трофических связей фитопатогенных микромицетов проводились эпизодически.

В публикации И.С. Гириловича, Н.А. Лемезы и А.С. Шуканова для восточной части Минско-Борисовского геоботанического района, указывается 67 видов мучнисторосяных грибов из 10 родов, паразитирующих на растениях 342 видов из 200 родов и 49 семейств [1]. Материалом для вышеуказанной работы послужили сборы микромицетов с территорий нескольких административных районов Беларуси, в том числе и Борисовского. В монографиях И.С. Гириловича, посвященных грибоподобным организмам порядка Peronosporales и мучнисторосяным грибам Беларуси, для территории Борисов-

ского района приводятся микромицеты соответственно 13 и 22 видов [2, 3]. По данным Гербария Института экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича (MSK-F, MSK-L) НАН Беларуси на территории Борисовского района встречаются 120 видов фитопатогенных микромицетов на питающих растениях, относящихся к 65 видам; из приводимого количества патогенов 89 видов указываются как повсеместные для Беларуси [4]. В микологической коллекции Гербария БГУ (MSKU-F) хранятся образцы 62 видов фитопатогенных микромицетов, собранных на территории Борисовского района на цветковых растениях 64 видов.

Исследования, проведенные нами в 2021-2024 гг. с использованием маршрутного и лабораторного методов, позволили установить для Борисовского района 101 вид фитопатогенных микромицетов, относящихся к 2 царствам, 4 отделам, 8 классам, 9 порядкам, 19 семействам, 35 родам [5]. Из общего числа обнаруженных нами микромицетов 81 вид ранее для данной территории Беларуси в литературе не указывался. Ниже приводим перечень новых для Борисовского района микроскопических грибов и псевдогрибов, выявленных нами на покрытосеменных растениях 59 видов.

OOMYCOTA: *Peronospora knautiae* Fuckel на *Knautia arvensis* (L.) Coult.; *P. flava* Gäum. на *Linaria vulgaris* Mill.; *Wilsoniana bliti* (Biv.) Thines на *Amaranthus retroflexus* L.

ASCOMYCOTA: *Erysiphe alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam. на *Quercus robur* L.; *E. intermedia* (U. Braun) U. Braun на *Lupinus polyphyllus* Lindl.; *E. hyperici* (Wallr.) S. Blumer на *Hypericum perforatum* L.; *E. knautiae* Duby на *Knautia arvensis* (L.) Coult.; *E. russellii* (Clinton) U. Braun & S. Takam. на *Xanthoxalis stricta* (L.) Small; *E. mayorii* S. Blumer на *Cirsium arvense* (L.) Scop.; *E. macleayae* R.Y. Zheng & G.Q. Chen. на *Chelidonium majus* L.; *Sawadaea bicornis* (Wallr.) Homma на *Acer negundo* L.; *Golovinomyces sordidus* (L. Junell) V.P. Heluta на *Plantago major* L.; *G. orontii* (Castagne) V.P. Heluta на *Campanula patula* L.; *G. cucurbitacearum* (R.Y. Zheng & G.Q. Chen) Vakal. & Kliron. на *Cucurbita pepo* L.; *G. sonchicola* U. Braun & R.T.A. Cook на *Sonchus arvensis* L.; *G. asterum* (Schwein.) U. Braun на *Solidago virgaurea* L. и *S. canadensis* L.; *Podosphaera erigerontis-canadensis* (Lév.) U. Braun & T.Z. Liu на *Taraxacum officinale* Wigg. s. l.; *P. dipsacacearum* (Tul. & C. Tul.) U. Braun & S. Takam. на *Knautia arvensis* (L.) Coult.; *Phyllactinia guttata* (Wallr.) Lév. (*Phyllactinia betulae* (DC.) Fuss) на *Betula pendula* Roth; *Ph. fraxini* (DC.) Fuss на *Fraxinus excelsior* L.; *Rhytisma salicinum* (Pers.) Fr. на *Salix caprea* L.; *Mycosphaerella lysimachiae* (Höhn.) Höhn. на *Tanacetum vulgare* L.

BASIDIOMYCOTA: *Urocystis trientalis* (Berk. & Broome) B. Lindeb. на *Trientalis europaea* L.; *Coleosporium campanulae* (Pers.) Tul. на *Campanula latifolia* L.; *C. sonchiarvensis* (Pers.) Lév. на *Sonchus arvensis* L.; *C. melampyri* (Rebent.) Kleb. на *Melampyrum nemorosum* L.; *Melampsora caprearum* (DC.) Thüm. на *Salix caprea* L.; *M. populnea* (Pers.) P. Karst. на *Populus balsamifera* L.; *M. salicina* Desm. на *Salix* sp.; *Thekopsora areolata* (Fr.) Magnus на *Padus avium* Mill.; *Pucciniastrum epilobii* G.H. Otth на *Epilobium palustre* L.; *Naohidemycus vaccinii* (Jørst.) S. Sato, Katsuya & Y. Hirats. ex Cummins & Y. Hirats. на *Vaccinium myrtillus* L.; *Puccinia arenariae* (Schumach.) G. Winter на *Melandrium album* (Mill.) Garcke; *Phragmidium rubi-idaei* (DC.) P. Karst. на *Rubus idaeus* L.; *Gymnosporangium cornutum* (Pers.)

Arthur на *Sorbus aucuparia* L.; *G. sabinae* (Dicks.) G. Winter на *Pyrus communis* L.

DEUTEROMYCOTA: *Monilia fructigena* (Pers.) Honey на *Malus domestica* Borkh., *Prunus domestica* L., *Pyrus communis* L.; *Ramularia grevilleana* (Tul. & C. Tul. ex Oudem.) Jørst. на *Fragaria vesca* L.; *R. taraxaci* P. Karst. на *Taraxacum officinale* Wigg. s. l.; *R. pratensis* Sacc. на *Rumex crispus* L.; *R. geranii* Fuckel на *Geranium palustre* L.; *R. coccinea* (Fuckel) Vestergr. на *Veronica chamaedrys* L.; *R. rhabdospora* (Berk. & Broome) Nannf. на *Plantago major* L.; *Alternaria solani* Sorauer на *Solanum tuberosum* L.; *A. japonica* Yoshii на *Brassica napus* L.; *Cercospora microsora* Sacc. на *Tilia cordata* Mill.; *C. carotae* (Pass.) Kazn. & Siemaszko на *Daucus sativus* (Hoffm.) Roechl.; *Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fuckel на *Malus domestica* Borkh.; *F. radiosum* (Lib.) Lind на *Populus tremula* L.; *Passalora fulva* (Cooke) U. Braun & Crous на *Solanum lycopersicum* L. (*Lycopersicon esculentum* Mill.); *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. на *Solanum tuberosum* L.; *Marssonina rosae* (Lib.) Died. на *Rosa* sp.; *M. betulae* (Lib.) Magnus на *Betula pendula* Roth; *M. potentillae* (Desm.) Magnus на *Fragaria vesca* L.; *Coryneum sorbi* Peck на *Sorbus aucuparia* L.; *C. foliicola* Fuckel на *Prunus domestica* L., *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott, *Malus domestica* Borkh.; *Cylindrosporium betulae* Davis на *Betula pubescens* Ehrh.; *C. hiemalis* B.B. Higgins на *Prunus cerasus* L.; *Gloeosporium tremulae* (Lib.) Pass. на *Populus tremula* L.; *Ascochyta syringae* (Westend.) Bres. на *Syringa vulgaris* L.; *A. cucumis* Fautrey & Roum. на *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. et Gray; *Phyllosticta leptidea* (Fr.) Allesch. на *Vaccinium vitis-idaea* L.; *Ph. ruborum* Sacc. на *Rubus idaeus* L.; *Ph. briardi* Sacc. на *Malus domestica* Borkh.; *Ph. fraxinifolia* Pass. на *Acer negundo* L.; *Ph. nicolai* Bubák на *Melandrium album* (Mill.) Garcke; *Ph. succedanea* (Pass.) Allesch. на *Vitis vinifera* L.; *Ph. urticae* Sacc. на *Urtica dioica* L.; *Ph. gei* Thüm. на *Geum urbanum* L.; *Ph. lantanoidis* Peck на *Viburnum opulus* L.; *Ph. atriplicis* Desm. на *Amaranthus retroflexus* L.; *Septoria ribis* (Lib.) Desm. на *Ribes rubrum* L.; *S. oenotherae* Westend. на *Oenothera biennis* L.; *S. cucurbitacearum* Sacc. на *Cucurbita pepo* L.; *S. stenactidis* Vill на *Phalacrocoma annuum* (L.) Dumort.; *S. centaureicola* Brunaud на *Centaurea jacea* L.; *S. plantaginis-majoris* (Sacc.) Nannf. на *Plantago major* L.; *S. pyricola* Desm. на *Pyrus communis* L.; *S. rubi* Westend. на *Rubus idaeus* L.; *S. virgaureae* Desm. на *Solidago virgaurea* L.; *Discosia bubaki* Kabát на *Fragaria vesca* L.

Анализ полученных данных показал, что среди обнаруженных нами фитопатогенных микромицетов представлены 18 видов, чужеродных для территории Беларуси: *Wilsoniana bliti*, *Erysiphe intermedia*, *E. russellii*, *E. macleayae*, *Golovinomyces orontii*, *G. cucurbitacearum*, *Gymnosporangium sabinae*, *Alternaria solani*, *A. japonica*, *Cercospora carotae*, *Passalora fulva*, *Ascochyta syringae*, *A. cucumis*, *Phyllosticta succedanea*, *Septoria oenotherae*, *S. lupini*, *S. cucurbitacearum*, *S. stenactidis* [6, 7]. Неконтролируемое распространение чужеродных микромицетов, поражающих дикорастущие и культивируемые растения, представляет собой угрозу для биоразнообразия Беларуси. Чужеродные микромицеты интенсивно внедряются в сообщества растений, быстро расширяют пределы своего обитания и, возможно, круг питающих растений [8]. Данный вопрос требует дальнейшего изучения, пристального внимания микологов, фитопатологов, специалистов по защите растений в процессе многолетнего регулярного мониторинга патогенной микобиоты на территории Борисовского района.

Полученные нами данные могут быть полезными при инвентаризации микобиоты Беларуси, прогнозировании распространения вредоносных микромицетов на другие территории со сходными условиями и расширения у патогенов круга питающих растений. Результаты исследований необходимо учитывать при разработке мероприятий по защите культивируемых растений от микозов, а также при подборе ассортимента растений для озеленения населенных пунктов Борисовского района.

Исследования выполнены в рамках научно-исследовательской работы «Инвазивные фитопатогенные грибы, грибоподобные организмы и беспозвоночные животные на культивируемых и близкородственных дикорастущих растениях: статус в сообществах, распространение, диагностика» (№ ГР 20211704).

Авторы выражают благодарность доценту кафедры ботаники биологического факультета БГУ В.Н. Тихомирову за помощь при определении растений.

Список литературы

1. Гирилович И.С. Грибоподобные организмы (порядок Peronosporales) Беларуси. Минск: БГУ, 2013: 183 с.
2. Гирилович И.С. Мучнисторосяные грибы (порядок Erysiphales) Беларуси. Минск: БГУ, 2018: 279 с.
3. Гапиенко О.С., Беломесцаева Д.Б., Кобзарь Н.Н. и соавт. Макромицеты, микромицеты и лихенизированные грибы Беларуси. Гербарий Института экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича (MSK-F, MSK-L). Минск: ИВЦ Минфина, 2006: 501 с.
4. 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.
5. Поликсенова В.Д., Храмцов А.К. Чужеродные фитопатогенные микромицеты Беларуси. Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2. Химия. Биология. География. 2015; 3: 43-48.
6. Дубовик Д.В., Дмитриева С.А., Ламан Н.А. и соавт. Черная книга флоры Беларуси: чужеродные вредоносные растения. Минск: Беларуская навука, 2020: 407 с.
7. Поликсенова В.Д., Джус М.А., Храмцов А.К. и соавт. Чужеродные растения и фитопатогенные микромицеты в Беларуси: реальная и потенциальная опасность. Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2. Хим., биол., геогр. 2016; 3: 60-67.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ВИДОВ *ASPERGILLUS* В ОБЩЕЙ И СУБЭПИДЕРМАЛЬНОЙ МИКОБИОТЕ СЕМЯН ПОДСОЛНЕЧНИКА

Пирязева Е.А., Зотова Е.В.

ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии, Москва

Подсолнечник является основной масличной культурой в России и многих других странах, таких как Индия, Пакистан, Ирак и др. Семена подсолнечника содержат 50% масла и 23% белка и являются незаменимым источником ненасыщенных жирных кислот и жизненно необходимых витаминов и минеральных веществ [1]. Из-за высокой питательной ценности продукт находит широкое применение в пищевой промышленности, а отходы в виде подсолнечных шротов и жмыхов активно используют в кормлении сельскохозяйственных животных.

Семена подсолнечника интенсивно поражаются грибами на всех стадиях развития, как во время вегетации, уборки урожая, так и в период его хранения. К грибам, контаминирующим продукт в период хранения, в первую очередь относят виды родов *Aspergillus*, *Penicillium*, а также представителей семейства Mucogasea, при этом потери урожая, зарегистрированные в этот период по данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (FAO) могут составлять 10–15% от общего объема производства, а в отдельных странах и до 30%. Микромицеты оказывают негативное влияние на жизнеспособность и всхожесть семян, а также на их санитарное состояние, так как в период своего развития грибы способны образовывать метаболиты, обладающие токсическими свойствами [2]. Среди грибов, поражающих семена в период хранения, значительное место занимают аспергиллы, которые являлись доминирующими в Египте [3] и Ираке [4]; чаще всего в Египте обнаруживали *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. terreus*; в Индии, Ираке, Румынии — первые два вида из вышеназванных [5–9].

Целью наших исследований являлось изучение в период 2015–2020 гг. общей и субэпидермальной микобиоты 64 проб семян подсолнечника, полученных из 6

регионов РФ (43 пробы), Средней Азии (5), США (2), а также приобретенных в магазинах и на рынках города Москвы (14 проб неустановленного происхождения).

Для изучения общей микобиоты использовали метод посева серийных разведений измельченного материала на агар Чапека-Докса (ЧДА) с 10% содержанием желчи и антибиотиками; для выявления грибов, заселяющих внутренние части семян, — непосредственный высев семян, предварительно обработанных формалином, с последующей двукратной нейтрализацией дезинфектанта стерильным раствором аммиака, на тот же агар. Грибы культивировали при 23–25°C в течение 7–10 суток, затем колонии, предварительно отнесенные к *Aspergillus*, отсеивали на чашки с агаром ЧДА с желчью и антибиотиками и, после проверки их чистоты, на пробирки с ЧДА. Число *Aspergillus* в составе общей микобиоты определяли количеством колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 г исследуемого материала; а степень распространенности *Aspergillus* в субэпидермальных частях семян подсолнечника выражали в процентах.

Грибы рода *Aspergillus* были отмечены в 42 пробах (65,6% от числа исследованных), при этом чаще всего их выявляли в составе общей микобиоты (34 пробы), несколько реже — в субэпидермальной (26 проб) и совсем редко совместно — как в общей так и субэпидермальной микобиоте (8 проб). Видовая идентификация аспергиллов позволила выявить 8 видов этого рода, преимущественно в семенах подсолнечника обнаруживали представителей секции *Aspergillus* (33 пробы; 51,5% от числа исследованных), среди которых доминировал вид *A. pseudoglaucus*, выявленный в 18 пробах из субэпидермальных частей семян, 9 — из состава общей микобиоты, и в 6 — из состава как общей, так и субэпидермальной микобиоты семян; значительно реже фиксировали присутствие *A. flavus* (15 проб, 23,4%): в 11; 2; 2 пробах

соответственно (таблица). Редко, большей частью в составе общей микобиоты, отмечали виды: *A. wentii* (8 проб; 12,5%) и *A. niger* (6; 9,4%), эпизодически, исключительно из субэпидермальных частей семян, регистрировали *A. alliaceus* (2; 3,1%), а также *A. ochraceus* (2; 3,1%), *A. versicolor* (1; 1,6%) и *A. tamarii* (1; 1,6%), которые выявляли при определении общей микобиоты.

Табл. 1. Распространенность грибов рода *Aspergillus* в составе общей и субэпидермальной микобиоты семян подсолнечника.

<i>Aspergillus</i>	Число контаминированных <i>Aspergillus</i> проб в составе микобиоты			
	общая	субэпидермальная	общая + субэпидермальная	всего, число/%*
виды секции <i>Aspergillus</i>	9	18	6	33/51,5
<i>A. flavus</i>	11	2	2	15/23,4
<i>A. niger</i>	4	2	0	6/9,4
<i>A. wentii</i>	6	2	0	8/12,5
<i>A. alliaceus</i>	0	2	0	2/3,1
<i>A. ochraceus</i>	2	0	0	2/3,1
<i>A. tamarii</i>	1	0	0	1/1,6
<i>A. vericolor</i>	1	0	0	1/1,6
всего	34	26	8	

Примечание: * – от числа исследованных.

Несмотря на значительное число контаминированных *Aspergillus* проб, степень пораженности ими в составе общей микобиоты в большинстве случаев была невысокой и варьировала в пределах 10–9000 КОЕ/г, при этом наибольшие уровни выявлены у представителей секции *Aspergillus* (9000 КОЕ/г) и *A. flavus* (6000 КОЕ/г). Содержание видов секции *Aspergillus* в 3-х пробах изменялось в пределах от 5000 до 9000 КОЕ/г, в 5-ти — от 1500 до 5000 КОЕ/г и в 7-ми — от 10 до 500 КОЕ/г. Присутствие *A. flavus* в количествах от 1000 до 6000 КОЕ/г отмечено в 3-х пробах, в 10 пробах оно составило от 10 до 200 КОЕ/г. В одной пробе обнаружен *A. wentii* в количестве 1000 КОЕ/г, в 5-ти пробах его содержание находилось в пределах 10–100 КОЕ/г. Остальные четыре вида (*A. niger*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*, *A. tamarii*) присутствовали в составе общей микобиоты в количествах, не превышающих 300 КОЕ/г. В составе субэпидермальной микобиоты наибольший процент пораженности семян аспергиллами отмечен для представителей секции *Aspergillus*: в 3-х пробах этот показатель варьировал в пределах от 50 до 100% , в 1-ой пробе — 36% и в 21-ой пробе — от 2 до 20%, при этом доминировал вид *A. pseudoglaucus*; степень контаминации остальными грибами была невысокой и составляла от 2 до 4%. Исследования, касающиеся изучения количественного состава общей и субэпидермальной микобиоты семян подсолнечника, проведенные египетскими учеными, показали, что *A. flavus* являлся наиболее часто встречающимся микромицетом, при этом во внутренних частях семян этих грибов было меньше, хотя и незначительно [9]. Подобные исследования в Ираке подтвердили выводы по количественному учету *Aspergillus* в составе общей и субэпидермальной микобиоты, однако видовую идентификацию авторы не приводили [4]. В наших исследованиях также частота встречаемости аспергиллов в составе общей микобиоты (34 пробы) была выше, чем в субэпидермальных частях семян (26 проб). Однако, количество проб, контаминированных видами секции

Aspergillus в составе субэпидермальной микобиоты, было в 2 раза выше, чем в составе общей, кроме того *A. alliaceus* выделяли только из внутренних частей семян, в остальных случаях тенденция сохранялась. Подобное несоответствие может свидетельствовать о начале порчи продукта, связанного с нарушениями условий хранения, прежде всего температурного и влажностного режимов. Установлено, что уже при относительной влажности воздуха 70–90% могут активно развиваться представители секции *Aspergillus* и *A. candidus*, изменяя температуру и влажность продукта [10], затем проявляют активность *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger* и другие виды. По данным Скудина с соавт. [11] аспергиллы в качестве заспорения начинают появляться на поверхности семян подсолнечника уже к концу 3-й недели после окончания цветения, в первую очередь это виды *A. terreus*, *A. wentii*, *A. sulphureus*, затем, на поздних стадиях созревания, – представители секции *Aspergillus*.

Полученные данные могут представлять интерес для служб, занимающихся контролем качества семян подсолнечника, используемого в пищевой промышленности и сельском хозяйстве.

Список литературы

1. Afzal R., Mughal S.M., Minur M., Sultana K., Qureshi R., Arshab M., Laghari M.K. Mycoflora associated with seeds of different sunflower cultivars and its management. Pakistan Journal of Botany. 2010, 42(1): 435–445.
2. Зотова Е.В., Кононенко Г.П., Буркин А.А. Микотоксины в подсолнечнике (*Helianthus annuus* L.): компонентный состав и распределение по растению. Современная Микология в России. 2017, 7: 202–204.
3. El-Maraghy S.S.M., El-Maghraby O.O.M. Mycoflora and mycotoxins of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds in Egypt 1. Sugar fungi and natural occurrence of mycotoxins. Qatar University Science Journal. 1986, 6: 107–121.
4. Hatim S.H., Al-Salami I., Jabbar M.K. Detection of seed-borne fungi associated with three sunflower cultivars and their effect on seed germination. International Journal of Agricultural Statistical Sciences. 2022, 18(1): 2041–2045.
5. Banu N., Muthumary J.P. Mycobiota of sunflower seeds and samples collected from vegetable oil refinery located in Tamilnadu, India. Mycological Progress. 2005, 4(3): 195–204.
6. Srinivas A., Pushpavathi B., Lakshmi B.K.M., Shashibhushan V. Detection of seedborne mycoflora of sunflower (*Helianthus annuus* L.). The Pharma Innovation. 2017, 6(9): 256–259.
7. Abdullah S.K., Al-Mosawi K.A. Fungi associated with seeds of sunflower (*Helianthus annuus*) cultivars grown in Iraq. Phytopathologia. 2010, 57: 11–20.
8. Tabuc C., Stefan G. Assessment of mycologic and mycotoxicologic contamination of soybean, sunflower and rape seeds and meals during 2002–2004. Archiva Zootechnica. 2005, 8: 51–56.
9. Ghoneem K.M., Ezzat S.M., El-Dadamony N.M. Seed-borne fungi of sunflower in Egypt with reference to pathogenic effects and their transmission. Plant Pathology Journal. 2014. 13(4): 278–284.
10. Лобанов В.Г., Скудина И.А., Щербаков В.Г. Изменение видового состава микрофлоры семян подсолнечника при хранении. Известия вузов. Пищевая технология. 1983, 6: 177–179.
11. Скудина И.А., Лобанов В.Г., Щербаков В.Г. Микрофлора созревающих семян подсолнечника. Известия вузов. Пищевая технология. 1990, 6: 20–22.

ФИТОСАНИТАРНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОСЕВОВ МНОГОЛЕТНИХ КОРМОВЫХ КУЛЬТУР НА ЕСТЕСТВЕННОМ И ИСКУССТВЕННЫХ ФОНАХ ЗАРАЖЕНИЯ

Разгуляева Н.В., Костенко Н.Ю., Благовещенская Е.Ю.
ВИК им. В.Р. Вильямса, Лобня

Посевы многолетних кормовых трав представляют собой биоценозы, формирующиеся и разрушающиеся в ходе вегетационного сезона. В них идет непрерывная последовательная закономерная смена одного биологического сообщества другим на определенном участке среды во времени в результате влияния природных факторов или воздействия человека. Это приводит к формированию в экосистемах своеобразных трофических групп. Они складываются преимущественно за счет видов с коротким циклом развития и высокой лабильностью реакций на внешнюю среду. Поэтому в агроэкосистемах часто не работают механизмы, обеспечивающие равновесие взаимоотношений их компонентов, что, в частности, обуславливает исключительную динамичность популяций вредных организмов.

По данным ФАО и практиков сельского хозяйства, в результате негативного воздействия вредных организмов (болезней, вредителей, сорных растений) ежегодно теряется до 1/3 урожая, что исчисляется сотнями миллиардами долларов [1].

В условиях Нечерноземной зоны России важнейшими кормовыми культурами являются клевер и многолетние злаковые травы, на которых сформировался обширный патогенный комплекс, состоящий из грибных, бактериальных и вирусных заболеваний. Его состав, распространенность и вредоносность вызываемых ими болезней постоянно меняются под воздействием климатических, экологических и антропогенных факторов. Проводимые с 1996 года в ФНЦ «ВИК им. В. Р. Вильямса» исследования по фитосанитарному мониторингу болезней многолетних кормовых культур позволяют выявить широкий спектр и динамику развития возбудителей.

В условиях Нечерноземной зоны России наибольшую опасность для многолетних трав представляют возбудители листовых пятнистостей и корневых поражений. При этом для бобовых культур на первый план выходят корневые гнили: (возбудители – *Fusarium* spp.) и рак (*Sclerotinia trifoliorum* Erikss.). На клевере луговом встречается 15 болезней, наиболее распространенные из них: рак, корневые гнили, бурая пятнистость, антракноз, аскохитоз, ржавчина. В 2023 году на растениях клевера лугового отмечено 9 заболеваний – фузариоз, рак, бурая пятнистость, аскохитоз, антракноз, ржавчина, мучнистая роса, вирусы, пероноспороз. Холодная погода в первой половине мая и засушливые условия в июне – августе отрицательно сказались на развитии филлосферных болезней. Так, распространенность бурой пятнистости составила 40%, что на 30% ниже среднемноголетнего значения. За все годы проведения мониторинга (с 1996 года) всего 5 раз наблюдалась распространенность болезни на уровне 3-38%. Среди всех филлосферных заболеваний только антракноз превысил среднемноголетние значения распространенности болезни (на 11%). Распространенность фузариоза и рака была на уровне средних значений. Поражение растений клевера возбудителями мучнистой росы, ржавчиной, пероноспороза и вирусами было незначительным и составило 2 – 8%.

Многолетний фитосанитарный мониторинг посевов позволил выявить динамику поражения растений

клевера лугового облигатными патогенами (ржавчиной и мучнистой росой). Так, у ржавчины нарастание пораженности происходит чаще всего раз в три – четыре года, а у мучнистой росы – раз в три года.

За последние 15 лет произошли изменения в соотношении видов в популяции возбудителей фузариоза [2]. Наблюдается нарастание пораженности растений антракнозом и бурой пятнистостью.

В 2023 году на фоне естественного заражения был проведен фитосанитарный мониторинг коллекции тимopheевки луговой и ежи сборной из отдела генофонда ФНЦ (ВИК им. В. Р. Вильямса.).

На 57 образцах тимopheевки луговой распространенность гетероспориоза колебалась от 0 до 89% (при средней многолетней 50%). Интенсивность развития пятнистости колебалась от 0 до 10 %. На 4 образцах признаков заболевания обнаружено не было. Распространенность сколекотрихоза на отдельных образцах достигала 100%, а интенсивность развития болезни – от 0 до 26%. Выявлено 3 образца, которые не были поражены возбудителем пятнистости. В предыдущие годы исследований на посевах тимopheевки луговой отмечалось незначительное развитие ржавчины в конце вегетации растений. В текущем году в фазу цветения наблюдалось интенсивное развитие стеблевой ржавчины. На 22 образцах изучаемой коллекции были обнаружены признаки заболевания. Распространенность ржавчины колебалась от 0,7 до 62%. За отчетный период развитие чехловидной болезни было слабым и не превышало 0,5%, при среднем многолетнем значении – 1%. Признаки мучнистой росы были выявлены на 1 образце, и распространенность болезни составляла 15%.

При обследовании 43 коллекционных образцов ежи сборной было установлено, что распространенность мастигоспориоза колебалась от 33 до 93%. Среднее многолетнее значение – 32%. Образцов без признаков поражения пятнистостью не выявлено. Развитие сколекотрихоза было значительно ниже по сравнению с пораженностью растений возбудителем мастигоспориоза. Пораженность растений ежи сборной серой пятнистостью не превышала 64% (средняя многолетняя – 29%). Выделено 3 образца не пораженных мастигоспориозом. В фазу цветения на 10 изучаемых образцах ежи сборной развивалась мучнистая роса. Пораженность образцов колебалась от 4 до 45% (средняя многолетняя – 2%).

Многолетний фитосанитарный мониторинг позволяет выявить наиболее распространенные и вредоносные заболевания многолетних кормовых культур. Развитие болезней на фонах естественного заражения в большой степени зависит от климатических, погодных, агротехнических и антропогенных факторов. Большую роль в системе управления фитосанитарным состоянием агроценозов играет селекция и возделывание сортов устойчивых к неблагоприятным биотическим и абиотическим стрессорам. Для создания селекционного материала кормовых культур, обладающих повышенной устойчивостью к патогенам, оценку болезнестойкости необходимо проводить в условиях полевых искусственных фонов. В свою очередь, при создании фонов нужно учитывать полученные данные фитосанитарно-

го мониторинга о постоянно изменяющемся видовом и популяционном составе того или иного возбудителя в условиях естественного заражения.

На полевых искусственных инфекционных фонах лаборатории иммунитета в 2023 году проходили оценку устойчивости к болезням 52 перспективных селекционных образцов клевера лугового, клевера ползучего и дикорастущих образцов костреца безостого.

При оценке 5 перспективных селекционных образцов клевера ползучего на раковом и фузариозном фонах в посевах 2 и 3 годов жизни по устойчивости к склеротиниозу выделились 2 образца – F₂ Ронни х ВИК 70 и Ladino gigante Ladino х СГП Белнииз. Эти образцы превысили сорт-стандарт ВИК 70 по устойчивости к раку на 28 и 27%. По устойчивости к корневым гнилям на фузариозном фоне выделились образцы F₃ Атоляй х Печорский и F₂ Ронни х ВИК 70, превысившие стандарт ВИК 70 на 29 - 25%. Комплексную устойчивость к раку и фузариозу показал образец F₂ Ронни х ВИК 70. В 2023 году на раковом и фузариозном фонах оценивалась устойчивость к болезням 8 перспективных селекционных образцов клевера лугового. На раковом фоне достоверно превысили сорта-стандарты по устойчивости к склеротиниозу 4 образца – 1217, СГП 30, Тетра 16 и №404. Распространенность болезни у этих образцов была на 21, 16, 17 и 13% ниже, чем у сортов-стандартов ВИК 77 и ВИК 84. На фузариозном фоне по устойчивости у корневым гнилям выделились образцы Тетра 16 и №404. Превышение над стандартами составило 32 и 31%. Тетраплоидные образцы Тетра 16 и №404 показали комплексную устойчивость к раку и склеротиниозу.

На искусственном инфекционном фоне проведения сравнительная оценка пораженности возбудителем гельминтоспориоза 36 сортообразцов костреца безостого. Данные, полученные за 3 года наблюдений, показывают, что развитие болезни на образце №34 составило 30%, что на 12% ниже по сравнению с сортом-стандартом Факельный. В 2023 году на инфекционном фоне была проведена оценка устойчивости 35 сортообразцов костреца безостого к возбудителю гельминтоспориоза.

Как и в предыдущие годы, основным заболеванием была гельминтоспориозная пятнистость. Распространенность болезни составляла 100%. Интенсивность развития болезни в фазу созревания семян колебалась от 28 до 51%. Были выделены 2 образца – дикорастущий из Ростовской области и дикорастущий из Тульской области, которые на 15 и 16% превысили сорт-стандарт Факельный по устойчивости к возбудителю гельминтоспориоза.

Заключение

В результате проведенных исследований пополнена новыми данными электронная база фитосанитарного мониторинга болезней посевов многолетних кормовых культур.

В 2023 году на клевере луговом отмечено 9 заболеваний: рак, фузариоз, бурая пятнистость, аскохитоз, антракноз, ржавчина, мучнистая роса, пероноспороз и вирусы. На злаковых травах идентифицировано 4 болезни: гельминтоспориоз, гетероспориоз, сколекотрихоз и мастигоспориоз.

При оценке на фоне естественного заражения устойчивости к болезням 100 дикорастущих образцов тимовки луговой и ежи сборной из отдела генофонда выделено 10 образцов перспективных по болезнеустойчивости.

На полевых искусственных инфекционных фонах выделено 13 образцов, превышающих сорта стандарты по устойчивости к болезням на 11-37%.

Список литературы

1. Санин С.С., Мотовилин А.А., Корнева Л.Г. и соавт. Химическая защита пшеницы от болезней при интенсивном зернопроизводстве. Защита и карантин растений. – 2011. – №3 – С. 3-10.
2. Разгуляева Н.В., Костенко Н.Ю. Использование искусственных инфекционных фонов для поиска источников устойчивости кормовых культур к болезням. Современная микология в России. Материалы 4 съезда микологов России. – Москва, 2017. – С. 95-96.

ФИТОПАГЕННЫЕ ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ ПРОРОСТКОВ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

Шамин А.А., Стогниенко О.И.

Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы и сахара имени А.Л. Мазлумова, ВНИИСС
Воронежской обл.

Корнеед – заболевание корневой системы всходов и проростков растений сахарной свеклы, вызываемое комплексом микроскопических грибов и бактерий. В Центральном Черноземье наиболее распространен корнеед фузариозной этиологии [3, 4]. Почвенные микроскопические грибы рода *Fusarium* обитают преимущественно на растительных остатках и в ризосфере растений, активно размножаются в мертвых корнях [1]. Это факультативные паразиты высших растений, проникающие в корневую систему через трещины, повреждения, обрывы мелких боковых корешков. Растения, ослабленные неблагоприятными погодными условиями, менее устойчивы к проникновению грибов в ткани корнеплодов [2]. Поражение сахарной свеклы корнеедом может служить индикатором, по которому можно косвенно судить о степени накопления инфекции в почве [5].

Результаты, приведенные в статье, были получены на основе многолетних исследований по определению видового состава возбудителей корнееда в свекловичных агроценозах на опытных полях ВНИИСС имени А.Л. Мазлумова.

Кроме выделения колоний различных видов и родов грибов-возбудителей болезни для них были рассчитаны показатели относительного обилия вида и частоты встречаемости. На основе установленных показателей сформирована структура патокомплекса корнееда.

В основе своей возбудителями корнееда являются почвенные виды грибов. Главным образом, это факультативные паразиты, которые ведут сапротрофный образ жизни, но при определенных условиях способны поражать ослабленные растения. Большинство выделенных видов – анаморфные грибы (*Anamorphic fungi*) с вегетативным телом в виде септированного мицелия или отдельных клеток, размножающиеся бесполом

путем, делением или почкованием. Объединение в эту группу основано на поверхностном сходстве (мицелий, конидии, конидиеносцы). Несколько установленных видов относятся к классу *Zygomycetes*. Среди них в основном это *Mortierella*, *Mucor* и *Rhizopus*.

Анализ возбудителей корневидия за последние 10 лет свидетельствует о сокращении видового разнообразия практически в три раза. В период с 2010 по 2013 гг. было выделено около 30 видов различных грибов, а с 2016 по 2021 гг. – не более 12 видов.

Грибов из группы *Anamorphic fungi* за весь период исследований выделено 19 видов, а *Zygomycetes* – 7 видов.

Наиболее важным показателем для формирования структуры патоконплекса заболевания является частота встречаемости – это относительное число выборок (образцов), в которых встречается вид. Он лежит в основе конструирования структуры популяции и доминирующих возбудителей корневидия (табл. 1).

Установленный для фитопатогенов *Absidia* sp., *Acremonium* sp., *Botrytis cinerea*, *Phoma betae*, *Rhizoctonia solani* показатель временной частоты встречаемости выявил случайный характер их присутствия в структуре патогенов возбудителей корневидия. Большинство из них не были выделены в структуре видов после 2016 г.

Табл. 1. Структура популяции возбудителей корневидия (ВНИИСС, 2010–2021 гг.)

Вид. Род	Частота встречаемости, % (по годам)								
	2010	2011	2012	2013	2016	2017	2018	2019	2021
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Zygomycetes</i>									
<i>Absidia</i> sp. van Tiegh.	7,4	3,7	7,4	14,8	–	–	–	–	–
<i>Mortierella</i> sp. Coem.	22,2	22,2	44,4	70,3	–	25	6,3	–	0,0
<i>M. lignicola</i> Martin	3,7	–	22,2	18,5	–	–	–	–	–
<i>M. mutabilis</i> Linnem	3,7	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Mucor</i> sp. Mich.	29,6	18,5	33,3	44,4	–	25	6,3	–	23,3
<i>M. himalis</i> Wehmer	18,5	14,8	37	44,4	–	–	–	–	–
<i>R. stolonifer</i> Ehrenb.	11,1	59,2	44,4	51,8	–	33	37,5	–	20,0
<i>Anamorpha fungi</i>									
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl	14,8	22,2	44,4	70,3	–	–	–	–	20,0
<i>Aspergillus</i> sp. Mich. ex Fr.	11,1	22,2	55,5	51,8	–	–	–	2,8	–
<i>A. candidus</i> Link.	11,1	40,7	66,6	62,9	–	–	–	–	–
<i>A. flavus</i> Link.	3,7	40,7	51,8	48,1	25,0	–	25,0	–	–
<i>A. niger</i> van Tiegh.	–	14,8	48,1	44,4	–	–	–	–	–
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	7,4	0	–	7,4	–	–	–	–	–
<i>Cladosporium herbarum</i> Link ex Fr.	14,8	14,8	62,9	66,6	–	25	12,5	–	0,0
<i>Fusarium gibbosum</i> App. et Wr.	37	29,6	44,4	55,5	–	–	–	2,8	13,3
<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	66,7	100	96,3	100	87,5	81	84,4	30,6	40,0
<i>F. oxysporum</i> v. <i>ortoceras</i> (App. Et Wr.) Bilai	22,2	29,6	59,2	74	18,8	50	40,6	–	36,7
<i>F. sambucinum</i> Fuck.	3,7	7,4	18,5	22,2	–	–	–	33,3	–
<i>F. solani</i> (Martin) App. et Wr.	22,2	85,2	88,9	92,6	100,0	63	81,3	25,0	36,7
<i>Gliocladium</i> sp. Pidopl.	14,8	–	74	77,7	–	–	–	–	–
<i>Hetomium globosum</i>	3,7	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Penicillium</i> sp. Link ex Fr.	100	100	100	100	100,0	66,6	87,5	75,0	100,0
<i>Phoma betae</i> Fr.	–	3,7	18,5	22,2	–	–	–	–	–
<i>Rhizoctonia solani</i> K hn	3,7	3,7	7,4	18,5	–	–	–	–	–
<i>Trichoderma viride</i> Pers.	29,6	18,5	44,4	62,9	75,0	38	56,3	5,6	3,3
<i>Acremonium</i> sp. Link	–	–	–	–	–	–	–	2,8	–
Прочие виды и роды	–	–	–	–	100	25	75	–	3,3

Наибольшее значение, которого достигала средняя частота встречаемости рода *Mucor* sp., – 44 %, в среднем за 9 лет временная частота встречаемости составила 20 %. Это означает, что гриб в структуре патогенов кор-

невидия является типичным и входит в категорию редких видов с частотой встречаемости (ЧВ) = 10–30 %. Грибы *Mortierella* sp. также являются типичными и редкими в структуре возбудителей корневидия. В 2013 г. частота

встречаемости грибов рода *Mortierella* достигала наибольшего значения за период исследований и составляла 70 %. *Rhizopus stolonifer* в отдельные периоды, будучи самостоятельным возбудителем корневидия, имел значительную временную частоту встречаемости, близкую к 30 %. Это значит, что он является не только типичным, но и частым видом в структуре патогенов (ЧВ = 30–60 %).

Виды *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *A. flavus*, *A. candidus*, *A. niger* также являются типичными возбудителями корневидия (временная ЧВ – до 21 %).

Вид *Trichoderma viride*, присутствовавший в структуре фитопатогенов на протяжении всего периода исследований, сначала имел тенденцию к возрастанию частоты встречаемости (ЧВ = 75 %), а затем показатель начал постепенно снижаться. С 2016 г. структура популяции возбудителей стала упрощаться и была представлена незначительным количеством видов.

Многочеточные грибы рода *Penicillium* являются типичными почвенными грибами, характеризуются большой устойчивостью к воздействию неблагоприятных условий окружающей среды. Поэтому эта группа в течение всего периода исследований была представлена наибольшим видовым разнообразием и не только в структуре возбудителей корневидия. Наиболее типичные для корневидия виды: *P. auranto-candidum*, *P. expansum*, *P. chrysogenum*, *P. cyclopium*, *P. purpurogenum*. Эти виды рода *Penicillium* являются не просто типичными, а доминирующими. Частота их встречаемости превышала 60 %-ный предел и доходила до 92 %.

Грибы *Fusarium sp.* – вторая группа грибов, представители которой являются доминирующими (*F. oxysporum* и *F. solani*) и частыми (*F. oxysporum v. ortoceras*) видами в структуре популяции возбудителей корневидия. Частота встречаемости вида *F. oxysporum* изменялась в пределах 30–100 %. Средний показатель частоты встречаемости за весь период исследований среди всех выделявшихся видов был наибольшим и составил 76 %. Вторым по показателю средней за девять лет частоты встречаемости был вид *F. solani* (66 %). Эти виды (*F. oxysporum* и *F. solani*) всегда выделялись из поврежденных корневищем проростков. Для *F. oxysporum v. ortoceras* установлено значение ЧВ = 36,8 %.

По результатам многолетних исследований установлен патогенный комплекс корневидия. С 2004 по 2016 гг. доминантами в патоконплексе были виды *F. solani* и *F. oxysporum*, первый – во влажных погодных условиях весны, второй – в засушливых. В отдельные годы оба становились доминантами. При этом, постепенно к 2015 г. произошли изменения: корневид микозной этиологии с доминированием грибов рода *Fusarium* сменился корневидом бактериальной этиологии, а с 2018 г. бактерии заняли доминирующее положение в патоконплексе.

В результате исследований установлено, что в структуру видов возбудителей корневидия входят более 30 видов микроскопических грибов. 75 % видов являются представителями группы *Anamorphic fungi*. Типичными возбудителями корневидия является около 17 видов и родов грибов. Среди них доминирующие виды: *F. oxysporum*, *F. solani*, а также грибы рода *Penicillium sp.*; частые виды: *R. stolonifer*, *F. oxysporum v. ortoceras*, *Trichoderma viride*; редкие виды: *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *A. flavus*, *A. candidus*, *A. niger* и др.; случайные виды: *Absidia sp.*, *Acremonium sp.*, *Botrytis cinerea*, *Phoma betae*, *Rhizoctonia solani* и др. За последние годы видовое разнообразие возбудителей корневидия существенно сократилось (в 3 раза). Наиболее вредоносными и распространенными остаются виды *F. oxysporum* и *F. solani*, увеличилась частота встречаемости бактериальной инфекции.

Список литературы

1. Билай В.И. Фузариоз. К: НД, 1977. - 442 с.
2. Селиванова, Г.А. Роль грибов рода *Fusarium* в патогенезе корневой системы сахарной свеклы. Современная микология в России. Раздел 7. Материалы 2-го съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии, 2008. - С. 203-204.
3. Селиванова Г.А., Стогниенко О.И. Видовой состав возбудителей корневых гнилей сахарной свеклы. Сахарная свекла. - 2007. - № 1. - С. 24-27.
4. Стогниенко О.И., Селиванова Г.А. Болезни сахарной свеклы, их возбудители: иллюстрированный справочник. - Воронеж: ООО «Антарес», 2008. - 112 с.
5. Шамин А.А., Стогниенко О.И. Влияние структуры популяции почвенных грибов на развитие болезней сахарной свеклы и фитотоксичность чернозема Защита и карантин растений. - 2017/ - №3. - С. 24-27.

РАЗНООБРАЗИЕ РОССИЙСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ *PUCCINIA STRIIFORMIS* НА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЕ ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ МАРКЕРАМ

Шайдаюк Е.Л., Гуляева Е.И.

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

Желтая ржавчина (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, *Pst*) – вредоносное заболевание мягкой пшеницы. Потери урожая могут варьировать от 10 до 70% [1,2]. Экологически безопасный метод борьбы с болезнью – возделывание генетически разнообразных резистентных сортов. Для успешной реализации генетической защиты необходима информация о структуре региональных популяций патогена. Для их изучения используются фитопатологические и молекулярные методы. Микросателлитный анализ получил наибольшее применение в популяционно-генетических исследованиях *Pst*. Международный набор, включающий 20 SSR-маркеров, подобран в Global Rust Research Centre (GRRRC) (Дания) и

рекомендован для широкого использования [3]. Цель данной работы охарактеризовать генетическое разнообразие российских популяций возбудителя желтой ржавчины, собранных с мягкой пшеницы в географически отдаленных регионах России в 2019-2021 гг., по микросателлитным маркерам.

Материалом исследований служили урединиоспоры монопустьных изолятов *Pst*, полученные из образцов популяций, собранных на Северном Кавказе (Дагестан, Краснодар), Северо-Западе (Ленинградская обл.), Поволжье (Саратовская, Кировская обл.) и Западной Сибири (Новосибирская, Красноярская обл.). Выделение ДНК из спорового материала гриба выполнено по ме-

тодике, описанной А. Justesen и соавторами [4]. В ПЦР анализе использовали 20 микросателлитных маркеров, подобранных в GRRС. Прямые праймеры данных маркеров были помечены флуоресцентными красителями. ПЦР проводили в амплификаторе С1000 BioRad с использованием следующей программы: денатурация 95 °С – 3 мин., 35 циклов: 95 °С 30 сек., 57 °С 90 сек., 72 °С 30 с. Генетический анализатор ABI Prism 3500XL (Applied Biosystems) использован для разделения аллелей.

Всего изучено 109 изолятов. Четыре локуса были мономорфными (RJN3, RJN12, RJO21, WU6). Дифференциация по локусу RJO3 отмечена только для одного изолята, а по локусам RJN6, RJO27 и WU12 для двух. Остальные 12 маркеров характеризовались более высоким уровнем полиморфизма. Число аллелей в них варьировало от 2 до 4 (табл. 1). Для большинства локусов наблюдаемая гетерозиготность была выше ожидаемой, что указывает на клональное происхождение популяций. Всего в анализе определено 43 полиморфных аллели и 53 молекулярных генотипа (MLGs). Тридцать семь из этих генотипов были оригинальными и отмечены единожды. Семь MLGs встречались в двух и более популяциях (табл.). Общего для всех изученных региональных коллекций MLG не выявлено. Наиболее представленный генотип MLG_1 был обнаружен во всех регионах за исключением Дагестана с частотой от 6.2% до 40%. По два SSR-генотипа определены в трех из регионов: MLG_2 в Дагестане, Краснодарском крае и Новосибирской обл., MLG_3 в Дагестане, Ленинградской и Новосибирской областях. По четыре MLGs обнаружены в двух регионах: MLG_4 в Дагестане и Ленинградской области, MLG_5 в Дагестане и Краснодарском крае, MLG_6 в Ленинградской и Новосибирской областях, MLG_7 в Дагестане и Ленинградской области. Наиболее представленный генотип MLG_1 отличался от генотипов MLG_2, MLG_6, MLG_9, MLG_15 одним аллелем, а от генотипов MLG_3, MLG_4, MLG_5, MLG_7, MLG_13 и MLG_14с с двумя аллелями. Дагестанские генотипы MLG_11 и MLG_12 различались между собой по одному аллелю, а красноярские MLG_8 и MLG_9 и ленинградские по двум аллелям.

Согласно индексу генетических расстояний Космана (KB) наименьшими различиями характеризовались дагестанская и краснодарская популяции (KB=0.06), а наибольшими дагестанская и сибирские (новосибирская и красноярская) (KB=0.11).

Проведенные исследования показали высокую эффективность микросателлитного анализа для популяционных исследований *Pst* в России. Существенный полиморфизм региональных популяций по микросателлитным локусам предопределяет необходимость проведения ежегодного мониторинга региональных популяций *Pst* в России.

Исследования выполнены в рамках проекта РНФ № 19-76-30005.

Табл. 1. Показатели генетического разнообразия по микросателлитным локусам региональных российских популяций *Puccinia striiformis*, собранных в 2019-2021 гг.

Показатель	Д ^а	Кр	СЗ	В	Сиб.	Всего
Число изолятов	28	16	45	5	15	109
Число молекулярных генотипов MLGs	14	10	25	4	11	53
Число оригинальных MLG	7	5	17	3	4	37
Среднее число аллелей (Na)	1.68	1.54	1.75	1.54	1.63	1.63
Среднее число эффективных аллелей (Ne)	1.35	1.38	1.39	1.42	1.39	1.38
Наблюдаемая гетерозиготность (Ho)	0.31	0.34	0.34	0.35	0.32	0.34
Ожидаемая гетерозиготность (He)	0.19	0.21	0.21	0.23	0.21	0.21
Процент полиморфных локусов	62.5	50	66.7	54.1	62.5	59.2
Превалирующие MLGs и их представленность (%):						
MLG_1	0	6.2	24.4	40	13.3	14.7
MLG_2	17.8	25	0	0	6.7	9.2
MLG_3	3.6	0	2.2	0	13.3	3.7
MLG_4	7.1	0	2.2	0	0	2.7
MLG_5	3.6	12.5	0	0	0	2.7
MLG_6	0	0	4.4	0	6.7	2.7
MLG_7	28.6	0	15.5	0	0	13.8
MLG_8	0	0	0	0	13.3	1.8
MLG_9	0	0	0	0	13.3	1.8
MLG_10	0	0	4.4	0	0	1.8
MLG_11	7.1	0	0	0	0	1.8
MLG_12	7.1	0	0	0	0	1.8
MLG_13	0	0	4.4	0	0	1.8
MLG_14	0	12.5	0	0	0	1.8
MLG_15	0	12.5	0	0	0	1.8
MLG_16	0	0	4.4	0	0	1.8

^а Д, Дагестан; Кр, Краснодарский край; СЗ, Северо-Запад; В, Поволжье; Сиб. Сибирь.

Список литературы

1. Chen, X. M. 2005. Epidemiology and control of stripe rust [*Puccinia striiformis* f. sp. tritici] on wheat. Can. J. Plant Pathol. 27:314-337. DOI: 10.1080/07060660509507230.

2. Zhou, X., Fang, T., Li, K., Huang, K., Ma, C., Zhang, M., Li, X., Yang, S., Ren, R., Zhang, P. 2022. Yield losses associated with different levels of stripe rust resistance of commercial wheat cultivars in China. Phytopathol. 112:1244-1254. DOI: 10.1094/PHYTO-07-21-0286-R.

3. Ali, S., Khan, M. R., Gautier, A., Swati, Z.A., Walter, S. 2017b. Microsatellite Genotyping of the Wheat Yellow Rust Pathogen *Puccinia striiformis*. In: Wheat Rust Diseases. Methods in Molecular Biology, eds. by Periannan, S. 1659:59-70. Humana Press, New York, NY DOI: 10.1007/978-1-4939-7249-4_6.

4. Justesen, A. F., Ridoutb, C. J., Hovmøller, M. S. 2002. The recent history of *Puccinia striiformis* f.sp. tritici in Denmark as revealed by disease incidence and AFLP markers. Plant. Pathol. 51:13-23. DOI: 10.1046/j.0032-0862.2001.00651.x

ДИАГНОСТИКА *F. GRAMINEARUM* МЕТОДОМ ПЦР АМПЛИФИКАЦИИ IGS РЕГИОНА

Шеримбетов А.Г.

Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз, Юкори-юз, Узбекистан

В связи с тем, что население мира увеличивает-ся с каждым днём, растёт и спрос на продукты полу-чаемые из зерновых культур. Известно, что особое внимание уделяется созданию новых сортов мягкой пшеницы, адаптированных для различных почвен-но-климатических условий, устойчивых к болезням и вредителям, обладающих высокой урожайностью и имеющих высокое качество зерна. Следует отметить, что *F. pseudograminearum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* и *F. asiaticum* занимают лидирующие позиции среди 10 видов грибов, наносящих наибольший экономический ущерб сельскохозяйственным культурам. Поэтому ак-туально исследование основ молекулярно-биологи-ческих методов надёжной защиты растений от фуза-риозных болезней, вызываемых микроскопическими грибами семейства *Fusarium*, в том числе выявление в них видов-возбудителей болезней. В связи с этим, на-дёжная защита растений от фузариозных болезней, вы-зываемых микроскопическими грибами рода *Fusarium*, в том числе использование современных молекуляр-но-биологических методов для определения видовой принадлежности возбудителей заболеваний относя-щихся к данному роду приобретает очень важное прак-тическое значение.

Основными двумя формами болезни на пшенице являются 1) фузариозная гниль корней, корневой шей-ки и нижней части стебля (сокращённо – фузариозная корневая гниль пшеницы, ФКГ, ФКГП) и 2) фузариоз-ная парша колосьев. В данной статье мы проанализиру-ем ФКГП. Фузариозами поражаются также всходы пше-ницы, что приводит к их загниванию, гибели и резкому снижению густоты стояния растений.

Возбудители фузариозов являются почвенны-ми грибами и некоторые из них (напр., *F. culmorum*, *F. pseudograminearum*, *F. crookwellense*) могут сохраняться в почве в течение ряда лет в жизнеспособном состоянии с помощью хламидоспор. Источниками инфекции фуза-риозов для растений пшеницы являются растительные остатки; для некоторых видов (напр., для *F. graminearum*) основным источником болезни служат заражённые се-мена. При использовании инфицированных семян из них вырастают больные проростки.

Симптомы, круг поражаемых патогенами видов рас-тений, цикл развития патогенов, источники инфекции, вредоносность фузариозов пшеницы и меры борьбы с ними подробно описаны в литературе [2, 3, 10-12].

Наиболее распространёнными, сильными и агрес-сивными возбудителями гнили всходов и ФКГП явля-ются *F. pseudograminearum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* s. str. и некоторые изученные представители KB FGSC. Пшеницу могут сильно поражать также *F. crookwellense*, *F. poae*, *F. acuminatum* и *F. avenaceum*, однако в сравнении с указанными выше тремя видами они считаются менее вирулентными, более зависимыми от погоды, имеющи-ми более ограниченные ареалы распространения [1, 4, 7, 8, 9].

Образцы для микологической экспертизы были со-браны во время экспедиции 2020-2023 г. в фермерские

хозяйства культивирующие пшеницу различных регио-нов Узбекистана, с целью их дальнейшего исследования.

Микологическую экспертизу и изоляцию культур грибов из образцов больных растений проводили с ис-пользованием методик Хасанова и Глухой [5]. Иден-тификацию культур проводили по определителям, Booth C. [6] Leslie J.F., Summerell B.A. [10].

Выделение ДНК, ПЦР-амплификация и секвениро-вание. Выделение ДНК осуществляли с использованием набора для очистки геномной ДНК GeneJET (Thermo Fisher Scientific). Измерение количества и качества ге-номной ДНК проводили с помощью спектрофотометра NanoDrop Eight (Thermo Fisher Scientific, США), затем образцы ДНК хранили при -20°C до проведения ПЦР. Фрагмент гена *tef-1* исследованных изолятов грибов рода *Fusarium* амплифицировали с использованием праймеров EF1 и EF2 с последующим секвенированием полученных ПЦР продуктов.

Для ПЦР использовали следующую программу термоциклирования: начальная денатурация (95°C, 10 мин), денатурация (94°C, 10 с), отжиг (55°C, 30 с), элон-гация (72°C, 1 мин). 40 циклов, финальная элонгация (72°C, 5 мин)

Полученные продукты ПЦР исследовали методом гель-электрофореза с буфером 1xTBE (pH 8,3) в 1,5% агарозном геле с доведением в гель раствора бромис-того этидия (EtBr) 0,5 мкг/мл.

Секвенирование ПЦР продуктов. Для определения нуклеотидных последовательностей гена *tef-1a* прово-дили секвенирование амплифицированных продук-тов. Для этого фрагменты амплификации вырезали из агарозного геля и очищали с использованием на-бора PureLink™ Quick Gel Extraction Kit (Invitrogen, США). согласно методике производителя. Секвени-рующие реакции выполняли с применением набора Big Dye® Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit («Applied Biosystems», США) согласно методике производителя.

В течении 2020-2023 годов были проведены иссле-дования в целях изучения грибов *F. graminearum* и *F. pseudograminearum* - возбудителей болезней фузариоз-ной корневой гнили и фузариозной гнили корневой шейки на образцах пшеницы, зараженных фузариоз-ной корневой гнилью и фузариозной гнилью корневой шейки. Выделенные культуры были идентифицирова-ны по морфологическим и микроскопическим призна-кам. С целью выделения ДНК из их культур, они были приведены в состояние МСИ.

Регион гена IGS, перенесенный специфически-ми праймерами *Fusarium graminearum* Fgr-F, Fgr-R и *Fusarium pseudograminearum* FP1-1, FP1-2 был амплифи-цирован.

В процессе культурально-морфологической и моле-кулярно-биологической идентификации гриба *Fusarium graminearum* морфологически на 60% был правильно идентифицирован (рис.1).

В целях изучения грибов *F. graminearum* и *F. pseudograminearum* - возбудителей болезней фуза-риозной корневой гнили и фузариозной гнили кор-

невой шейки пшеницы в результате исследований, проведенных с помощью морфологических и молекулярно-генетических методов, не был выявлен грибок *F. pseudograminearum*. Молекулярно-генетическими анализами было подтверждено, что в Узбекистане корневую и фузариозную гнили корневой шейки пшеницы вызывает грибок *F. graminearum*.

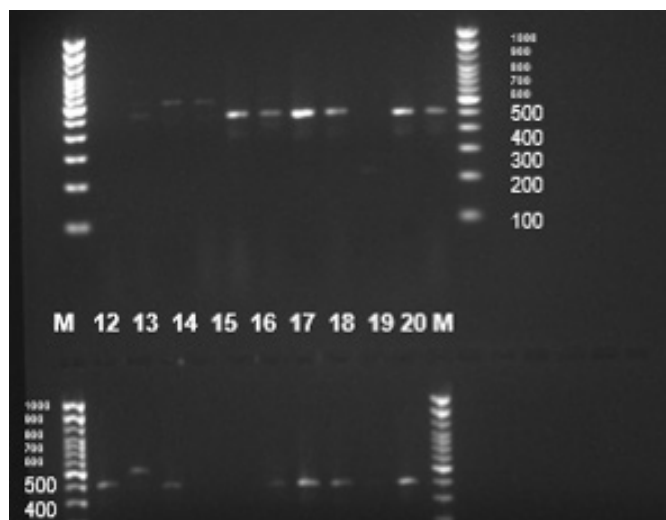


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации IGS ген региона, перенесенного на грибок *F. graminearum* специфическими Fgr-F и Fgr-R праймерами

Список литературы

1. 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.
2. Ганнибал Ф.Б. Видовой состав, систематика география возбудителей альтернариозов подсолнечника в России. Вестник защиты растений, 2011, 1, с. 13-19. с 13

3. Ганнибал Ф.Б. Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria*. Методическое пособие. 2011, с. 4
4. Гулмуродов Р.А. Гнили всходов, корней, стеблей, головок и мучнистая роса пшеницы и меры борьбы с ними. Монография. Ташкент: ТашГАУ, 2016, 160 стр. (на узбекском).
5. Хасанов Б.А., Глухова Л.А. Методические указания по выделению, идентификации возбудителей и созданию искусственного инфекционного фона «гельминтоспориозов» ячменя. Ташкент, изд. Фан, 1992
6. Booth C. Methods in microbiology. Academic press London and New York. Vol. 4. 1971P. 137 – 149, 404 - 421.
7. Burgess L.W., Bentley A.R., Wallwork H. Crown rot of wheat. Pages 45-50 in: Nicol J.M., Bentley A.R., Ferrar P.J. (eds.). Soilborne pathogens of wheat: their biology, economic importance and integrated control. 4th Int. Master Class in soilborne pathogens of wheat. Advanced theoretical training manual. Turkey, Anadolu Res. Inst., 2010, June 20 – July 3, 181 pp.
8. Cook R.J. Fusarium root, crown, and foot rots and associated seedling diseases. Pages 37-39 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.
9. Knight N.L., Sutherland M.W. Assessment of *Fusarium pseudograminearum* and *F. culmorum* biomass in seedlings of potential host cereal species. Plant Disease, 2017, vol. 101, No. 12, pp. 2116-2122. DOI: 10.1094/PDIS-12-16-1739-RE
10. Leslie J.F., Summerell B.A. 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Ames, Iowa, USA, Blackwell Publishing, 2006, xii + 388 pp.
11. Rotem J. The genus *Alternaria*. St. Paul, 1994, 326 p.
12. Xu F., Yang G., Wang J., Song Y., Liu L., Zhao K., Li Y., Han Z. Spatial distribution of root and crown rot fungi associated with winter wheat in the North China Plain and its relationship with climate change. Frontiers in Microbiology, 2018, vol. 9, pp. 1054-1064. Article 1064. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01054.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ГРИБА *PODOSPHAERA XANTHII* – ВОЗБУДИТЕЛЯ НАСТОЯЩЕЙ МУЧНИСТОЙ РОСЫ НА КУЛЬТУРАХ СЕМЕЙСТВА *CUCURBITACEAE*

Слетова М.Е.¹, Коротцева И.Б.¹, Каменева А.В.¹, Чижик В.К.^{1,2}, Белов С.Н.¹
Федеральный научный центр овощеводства, ВНИИССОК Моск. Обл.
² ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии, Москва

Среди экономически значимых заболеваний на культуре огурца настоящая мучнистая роса остается в числе наиболее вредоносных. Особенно это актуально для выращивания огурца в светокультуре и в условиях весенних-плёночных теплиц. Согласно литературным источникам, в патогенезе мучнистой росы на представителях семейства *Cucurbitaceae* могут участвовать три вида возбудителя *Podosphaera xanthii* Poll. (син. *Sphaerotheca fuliginea* Schlechtexfr.), *Erysiphe cichoracearum* Dc Exmerat (син. *Golovinomyces cichoracearum*), *Leveillula taurica* f. *cucurbitacearum* Gol, из которых в условиях Московской области обнаружены только первые два. Вредоносность патогенов при оптимальных почвенно-климатических условиях может приводить не только к значительному ухудшению качества плодов, но и к снижению урожайности до 20%. В отдельные эпифитотийные годы потери могут достигать 100% [1, 2].

Материалы и методы. Исследования выполнялись на базе лаборатории молекулярно-иммунологических исследований и селекции и семеноводства тыквенных культур ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства», а также лаборатории ДНК маркеров растений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии».

Мониторинг распространённости и вредоносности настоящей мучнистой росы на культуре огурца проводили в условиях защищённого грунта Московской области. Идентификация видовой принадлежности возбудителей проводили по таксономически значимым характеристикам анаморфной стадии: наличию фибриновых телец, по скорости и способу прорастания ростковой трубки, а также линейным размерам конидий. Также изучение видового и расового состава возбудителя проводили с помощью общепринятого набора растений – дифференциаторов в вегетационных боксах [3].

Соответствие таксономическому статусу подтверждали по нуклеотидным последовательностям внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS). Выделенный изолят настоящей мучнистой росы протестировали на патогенность на восьми селекционных образцах огурца. Инокуляцию осуществляли в контролируемых условиях вегетационного бокса свежеприготовленной споровой суспензией конидий в концентрации 10⁴ (освещение день/ночь 12ч/12ч, температура 23±1°C и влажность воздуха 60-80%). Заражение проводили троекратно, путём опрыскивания каждые 7 суток. Стандарт устойчивости – сорт Единство (ФГБНУ ФНЦО, РФ) и стандарт восприимчивости Л-156 (Япония). О степени агрессивности изолята судили по степени развития болезни (R, %), которую вычисляли по формуле:

$$R=(\sum(r\times b)\times 100)/(n\times 4)$$

где – сумма произведений (r×b); r – количество пораженных растений; b– балл поражения; 4 – высший балл поражения; n – количество учитываемых растений.

Степень поражения повреждённых растений оценивали по следующей шкале:

- 0 - здоровые растения; 0,1 - единичные признаки заболевания;
- 1 - поражено до 1/4 поверхности листа;
- 2 - поражено до 1/2 поверхности листа; 3 - поражено до 2/3 поверхности листа;
- 4 -поражено более 2/3 поверхности листа.

Дифференциацию сортообразцов культур семейства *Cucurbitaceae* L. по группам устойчивости проводили согласно шкале [10]:

- I - относительно устойчивые – степень развития болезни 0 до 10%.
- II - слабовосприимчивые – от 11 до 25%.
- III - средневосприимчивые – от 26 до 50%.
- IV – сильно восприимчивые> 50%

Результаты. В условиях защищённого грунта Московской области с использованием молекулярно-филогенетических и микроскопических методов идентифицирован значимый в экономическом отношении возбудитель настоящей мучнистой росы вида *P. xanthii*. Так, изучение конидиального спороношения агрессивного изолята возбудителя настоящей мучнистой росы в анаморфной стадии микроскопическим методом с применением влажной камеры показало, что прорастание ростковой трубки происходило спустя 12ч при температуре 21 °С из широкой части конидии, что характерно для вида *P. xanthii*. При этом ростковые трубки имели типичные простые, достаточно короткие, иногда раздвоенные ростковые трубки (рисунок 1).

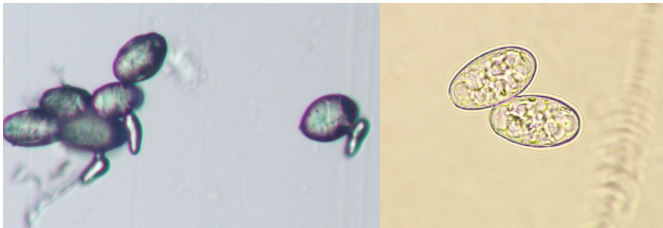


Рис. 1. А – Прорастание ростковой трубки возбудителя настоящей мучнистой росы *P. xanthii*; В – Конидии с фиброзиновыми тельцами.

У представителей же вида *E. cichoracearum* ростковая трубка формируется уже спустя 2,5 - 3 часа из узкой части конидии, чаще всего под углом и при этом формирующийся апрессорий на её конце имеет форму булавы. В присутствии 3% раствора гидроксида калия в конидиях обнаружены желтовато-зеленоватые структуры стержнеобразной формы -фиброзиновые тельца. Известно, эти структуры отсутствуют в конидиях у вида *E. cichoracearum* [4].

Изучение линейных размеров конидий выявило, что показатель «длина» варьирует в диапазоне от 21,3 мкм до 35,9 мкм (со средним значением 30,5 мкм), а «ширина» - от 12,4 мкм до 23,2 мкм (со средним значением 17,7 мкм). При этом индекс формы (соотношение длины к ширине) составил 1,8 (диапазон от 1,3 до 2,7), что совпадает с сообщениями других исследователей [].

Результаты изучения иммунологической реакции растений – дифференциаторов для рас настоящей мучнистой росы выявили, что в изучаемом образце присутствует смесь различных физиологических рас патогена *P. xanthii* (таблица 1). Сильное поражение со степенью развития болезни от 60 до 100% отметили на растениях *Lagenaria siceraria*, огурца сорта Marketer, дыни сорта PMR-45 и кабачке сорта Diamant.

Отсутствие восприимчивости тест-растений арбуза и люффы является косвенным подтверждением наличия в патокмлексе только патогенных рас (0, 1, 2 3, 4 и 5) и патотипов (А и В) вида *P. xanthii*.

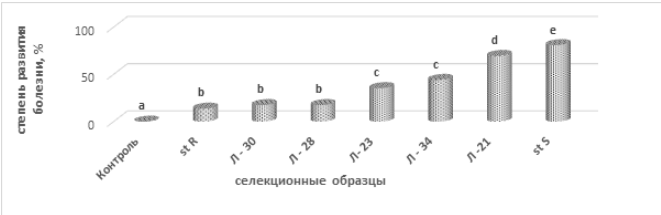
Табл. 1. Иммунологический ответ тест-растений к возбудителю мучнистой росы в условиях искусственного инфекционного фона

№	Тест -растения	Реакция восприимчивости/ устойчивости*
1	<i>Lagenaria siceraria</i>	S
2	<i>Cucumis sativus</i> L. cv. Marketer	S
3	<i>Cucumis melo</i> L. cv. PMR-45	S
4	<i>Cucurbita pepo</i> cv. Diamant	S
5	<i>Citrullus lanatus</i> cv. Sugar Baby	R
6	<i>Luffa cylindrica</i>	R

*R – resistant, S - susceptible.

Изучение степени агрессивности изучаемого возбудителя настоящей мучнистой росы проводили в контролируемых условиях искусственного инфекционного фона на восьми различных по устойчивости генотипах огурца. Первые симптомы в виде отдельных белых талькообразных колоний в стадии одного-двух настоящих листьев до 1 б поражения обнаружили на 7 сутки после инокуляции у селекционных образцов Л-156 (стандарта восприимчивости) и Л-21. Спустя трое суток наблюдали стремительное развитие симптомов с 3-4 балами поражения и степенью распространения 100% на растениях восприимчивых генотипов. Однако по степени развития заболевания сортообразец Л-21 (69,6%) достоверно отличался от восприимчивого стандарта (78,6%). Начало поражения у образцов Л-23 и Л-34 отметили спустя 14 суток после заражения. Интенсивность инфекционного процесса протекала неоднородно. С постепенным усилением симптоматики к 34 суткам после заражения (от 1 до 2 б и степенью распространения до 95%), затем, наряду с активным вегетативным ростом, отмиранием

семядольных и первых пораженных листьев (усыхание) и значительным торможением развития спороншения на новых отрастающих листьях до 0,1-16. Однако спустя 10 суток, наблюдалось усиление поражения до 1-2 б



и степени распространения до 90 - 100%. В результате анализа итоговых данных степень развития болезни на этих генотипах достигла 33,8% (Л-23) и 40% (Л-34) соответственно.

*на рисунке приведены средние значения степени развития болезни, % сортов, инфицированных изолятом; а–е: значения с одинаковой буквой достоверно не имеют существенной разницы с вероятностью 95% согласно тесту Дункана.

St R – стандарт устойчивости (с. Единство)
St S – стандарт восприимчивости (Л-156)
Рис. 2. Степень развития возбудителя настоящей мучнистой росы на контрастных по восприимчивости генотипах огурца (%).

Селекционные образцы Л-30 и Л-28 не имели достоверных различий со стандартом устойчивости сортом Единство. Первые единичные колонии были отмечены через 15 суток после заражения. на 7е сутки индекс поражения составил всего 0,16. В течение всего периода наблюдений степень поражения изменялась от 0,1 до 1 б, а степень развития болезни варьировала от 12,9% (сорт Единство) до 17,5% (Л-30 и Л-28 соответственно). В результате анализа иммунологической реакции селекционных образцов выявлена их дифференциация по группам устойчивости. Сортаобразец Л-21, наряду со стандартом восприимчивости Л-156 отнесены к группе сильновосприимчивых, в группе средневосприимчивых оказались образцы Л-34 и Л-23, а к слабовос-

приимчивым вошли образцы Л-28 и Л-30 вместе с сортом Единство.

Таким образом, при инокуляции синтетической смесью рас возбудителя настоящей мучнистой росы контрастных по восприимчивости сортаобразцов огурца выявлена достоверно высокая агрессивность к четырём селекционным образцам ($P \leq 0,05$). При изучении инфекционного процесса линий Л-34 и Л-21 отмечена возможность как снижения степени поражения растения за счет роста новых листьев и усиления сопротивляемости к развитию патогена, так и постепенное снижение устойчивости с началом генеративной фазы.

В результате фитомониторинга в условиях защищённого грунта Московской области при выращивании огурца был изучен современный видовой и расовый состав настоящей мучнистой росы.

Полученные данные будут иметь приоритетное значение в адресной селекции огурца на устойчивость к возбудителю настоящей мучнистой росы – грибу *P. xanthii*.

Список литературы

1. Слетова М.Е. Основные морфобиологические признаки для идентификации возбудителей настоящей мучнистой росы тыквенных культур. Овощи России. 2022;(4):5-10. DOI: 10.18619/2072-9146-2022-4-5-10

2. Chikh-Rouhou, H.Garcés-Claver, A., Kienbaum, L., Ben Belgacem, A.; Gómez-Guillamón, M.L. Resistance of Tunisian Melon Landraces to *Podosphaera xanthii*. Horticulturae 2022, 8, 1172. DOI: 10.3390/horticulturae8121172

3. Lebeda A., Kristkova E., Sedlakova B., Coffey M. D, McCreight and J. D. McCreight. Gaps and perspectives of pathotype and race determination in *Golovinomyces cichoracearum* and *Podosphaera xanthii* Mycoscience (2011) 52:159–164 DOI: 10.1007/s10267-010-0098-8

4. Николаев А.Н. Мучнистая роса тыквенных культур в Молдове. Аграрная наука. 2019;(3):96–101. DOI: 10.32634/0869-8155-2019-326-3-96-101

ПРИМЕНЕНИЕ ГРИБОВ-АНТАГОНИСТОВ РОДА *PENICILLIUM* ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОЙ НАГРУЗКИ В ПОЧВЕ СВЕКЛОВИЧНОГО АГРОЦЕНОЗА

Стогниенко О.И., Селиванова Г.А., Герр Е.С., Шамин А.А., Гаврилова М.Ю.
ВНИИ сахарной свеклы и сахара им.А.Л. Мазлумова, Рамонь, Воронеж. Обл.

В лаборатории иммунитета сахарной свеклы ВНИИ-ИСС им. А.Л. Мазлумова в течение 20 лет проводится мониторинг микологического состояния почв свекловичных агроценоза [1, 2, 3]. Можно сделать вывод, что происходит микробиологическая деградация чернозема выщелоченного, обеднение видового состава микроскопических грибов, доминирование фитопатогенных видов. Увеличивается фитотоксичность почвы и доходит до 70 %, что сказывается на низких темпах развития растения в первой трети вегетации, и выражается в потере продуктивности.

Биологические средства защиты следует рассматривать как неотъемлемую составляющую интегрированной системы защиты в современном растениеводстве, а в ряде случаев и как единственное средство контроля почвообитающих фитопатогенов.

Нами проведены многолетние исследования по изучению взаимодействия аборигенных почвообитающих грибов с коллекционными штаммами *Fusarium*. В результате скрининга в коллекцию внесены три изолята

Penicillium, проявившие антагонизм по отношению к токсигенным и агрессивным штаммам *Fusarium*. Установлено, что продукты жизнедеятельности этих изолятов способны увеличивать всхожесть семян и ускорять развитие проростков сахарной свеклы в лабораторных опытах.

Из чернозема выщелоченного были выделены на полях ВНИИСС в 2017 г.: Штамм Ramsel PGC – P1 (вид *P. glaucocinereascens* Chal.): Колония на агаре Чапека оливково-серый со временем приобретает оливково-серовато-коричневый оттенок, войлочная, диаметр 3–4 см. Реверзум светло-оливковый, край колонии оливковый (рисунок 4). Конидиеносцы 90 – 100 μ, кисточка разветвлена на 3 – 4 веточки. Конидии эллипсоидные, 2,5 – 3 x 1,8 – 2 μ.

Штамм Ramsel P – P2 – Колония на агаре Чапека вначале ярко-зеленая, со временем приобретает оранжево-коричневый оттенок, широко растущая. Реверзум оранжевый, оранжево-коричневый (рисунок 6). Конидии круглые, 3,5–4 μ.

Штамм Ramsel PL – P3 (вид *P. lanosum* Westl.): На агаре Чапека колония бледно-зеленая, затем зеленовато-серая, войлочно-пушистая, диаметр 4 – 5 см. Реверзум бежевый, желтовато-бежевый (рисунок 8). Кисточки длиной до 2 мм, разветвленные. Конидии круглые, 2,2 – 3 м.

Штамм Ramsel TV-22 (*Trichoderma viride*) – выделен в 2022 г. Колонии на агаре Чапека зеленые, лимонно-зеленые, реверс молочного, бежево-молочного цвета, колонии на картофельном агаре темно-зеленые с возрастом коричнево-зеленые, реверс бежевый

Споровую суспензию штаммов вносили в рядки при посеве в концентрации 35×10^5 КОЕ/1 мл из расчета 300 л рабочего раствора/га с последующей заделкой. Опыт заложен систематически со сдвигом в следующем повторении в трехкратной повторности. Площадь учетной делянки 13,5 м²,

Схема опыта

1 – почва обработана споровой суспензией штамма Ramsel PGC – P1

2 – почва обработана споровой суспензией штамма Ramsel P – P2;

3 – почва обработана споровой суспензией штамма Ramsel PL – P3;

4 – почва обработана биопрепаратом Стернифаг (80 г/га) (стандарт);

5 – почва обработана споровой суспензией аборигенного штамма *Trichoderma viride* Ramsel TV-22;

6 – почва не обработана (контроль).

В результате вегетационных и полевых опытов установлено:

Наименьшая фитотоксичность культурального фильтрата установлена у штамма Ramsel PGC – P1, наибольшая у штамма Ramsel P – P2. В вегетационном опыте по изучению влияния культурального фильтрата на всхожесть лучшие показатели были в варианте 1 (Ramsel PGC – P1) – 94,3 %.

В полевом опыте корневид отсутствовал в варианте 5 (Ramsel TV-22), незначительные показатели были в варианте 1 (Ramsel PGC – P1). Структура популяции возбудителей корнеида представлена грибами: *Fusarium oxysporum* в контрольном варианте частота встречаемости 66 %, в вариантах 1, 3, 4 – 33%, отсутствовал в вариантах 2, 5. Установлено, что в варианте 1 (Ramsel PGC – P1) выпад от фузариозной гнили в период вегетации был минимальными. Больше всего выпадов от гнили произошло в варианте 2 (Ramsel P – P2), в этом же варианте были наибольшие темпы возрастания распространности гнилей. В конце вегетации при выкопке установлены следующие болезни корнеплодов: фузариозная гниль, парша, некроз центрального сосудистого пучка, мочковатость, разветвление корнеплодов, дуплистость. Самая низкая распространенность фузариоза (6,0%) наблюдалась в варианте 1 Ramsel PGC – P1, что в 2 раза меньше, чем в контрольном варианте; в варианте 4 (Стернифаг) – фузариоза (5,4%) и некроза центрального сосудистого пучка (13,2%). Возбудителями фузариозной гнили корнеплодов в июле-августе были виды: *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. gibbosum*, *F. javanicum*. *F.*

oxysporum отсутствовал в варианте 3 (Ramsel PL – P3), в остальных вариантах, кроме контрольного, частота встречаемости составила 33 %. В октябре видовой состав возбудителей был представлен теми же видами, частота встречаемости *F. oxysporum* увеличилась до 60 % в вариантах 1, 2, 5, в остальных – до 100%.

Через 2 месяца после инокуляции в июле все штаммы *Penicillium* (Ramsel PGC – P1, Ramsel P – P2, Ramsel PL – P3) прижились в ризосфере сахарной свеклы, но в почву не мигрировали. Штамм *Trichoderma* Ramsel TV-22 выявлен, как в ризосфере, так и в почве междурядий. Численность грибов рода *Fusarium* в вариантах 1, 2, 3 снижалась в 2-3 раза по сравнению с контролем, а вариантах 4 (st), 5 не выявлены. В варианте 5 штамм Ramsel TV-22 *Trichoderma* уничтожил большинство видов грибов в почве и ризосфере, кроме видов рода *Penicillium*. Все инокулированные штаммы *Penicillium* сохранили свое присутствие в ризосфере в августе и октябре. В августе численность *Fusarium oxysporum* в почве была выше, чем в ризосфере. Это свидетельствует о том, что инокулированные штаммы вытесняют патогенов из ризосферы. В варианте 5 (Ramsel TV-22) в почве данный вид отсутствует. Численность *Fusarium oxysporum* во всех вариантах была ниже чем в контроле на 30-50 %, кроме варианта 2, где превышение составило 40 %. Фитотоксичность почвы в засушливых условиях сентября была достоверно наименьшая в варианте 1 ФТ=77 % и в варианте 2 ФТ=78 %. В октябре после выпадения осадков во всех вариантах фитотоксичность была менее контрольного варианта, а наименьшая также в варианте 1.

При учетах болезней листьев, установлено, что значительное снижение по сравнению с контролем распространенности наблюдалось только по альтернариозной пятнистости в вариантах 1, 3, 4, так как возбудитель *Alternaria alternata* является почвенным грибом.

Штаммы *Penicillium* по отношению к основным патогенам сахарной свеклы *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* проявляют свойства антагонизма; штамм Ramsel TV-22 – свойства паразитизма.

Таким образом, по комплексу признаков для дальнейшего изучения можно рекомендовать штаммы Ramsel PGC – P1, Ramsel PL – P3, Ramsel TV-22 и использовать для снижения распространенности фитопатогенов в почвах свекловичных севооборотов и корневых гнилей сахарной свеклы.

Список литературы

1. Шамин А.А., Стогниенко О.И. Изменения в комплексе почвенных микроскопических грибов (чернозем выщелоченный) в свекловичном агроценозе. «Биосфера», №4, 2022. С. 422- 427.
2. Стогниенко О.И., Шамин А.А., Герр Е.С.. Управление фитосанитарным состоянием (корневые гнили) в свекловичных севооборотах. М. «ЗЕТАПРИНТ», 2023 г. 128 с.
3. Селиванова Г.А., Гаврилова М.Ю. Формирование комплекса почвообитающих микроскопических грибов свекловичного агроценоза в зависимости от агрофона / В сб.: Защита растений от вредных организмов. Материалы XI международной научно-практической конференции. Выпуск 11. Краснодар, 2023. С. 344-347.

ДОПОЛНЕНИЕ К ПЕРЕЧНЮ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ СВЕТЛОГОРСКОГО РАЙОНА ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ БЕЛАРУСИ

Свирид А.П., Храмцов А.К.

Белорусский государственный университет, Минск

Фитопатогенные микроскопические грибы и грибоподобные организмы широко распространены как в Беларуси, так и во всем мире и являются неотъемлемой частью экосистем. Паразитируя на дикорастущих и культивируемых растениях, они нередко вызывают массовые заболевания растений – эпифитотии. Изучение разнообразия фитопатогенных микромицетов определенных территорий представляет собой как теоретический интерес, так и имеет практическую значимость, поскольку дает возможность наметить оптимальные пути подавления фитопатогенов и сознательно влиять на формирование агрофитоценозов для получения высокого хозяйственного эффекта.

Степень изученности разнообразия фитопатогенных микромицетов отдельных регионов Беларуси остается невысокой. К таким территориям принадлежит Светлогорский район Гомельской области, где наблюдается сильное техногенное воздействие на окружающую биоту (на территории района находятся такие предприятия, как ОАО «СветлогорскХимволокно», ОАО «Светлогорский целлюлозно-картонный комбинат», ОАО «Светлогорский завод железобетонных изделий и конструкций» и др.). Так, по данным Гербария Института экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича (MSK-F, MSK-L) НАН Беларуси для территории Светлогорского района указывается 59 видов фитопатогенных микромицетов [1]. С учетом микроскопических грибов и грибоподобных организмов, поражающих растения повсеместно в республике, количество фитопатогенных микромицетов для данного района может оцениваться в 148 видов [1]. В микологической коллекции Гербария БГУ (MSKU-F) хранятся образцы 103 видов фитопатогенных микромицетов, собранных на территории Светлогорского района (коллектор И.С. Гирилович). В монографиях И.С. Гириловича, посвященных грибоподобным организмам порядка Peronosporales и мучнисторосяным грибам Беларуси, для территории Светлогорского района указываются микромицеты соответственно 11 и 52 видов [2, 3].

Исследования, проведенные нами в 2021-2024 гг. с использованием маршрутного и лабораторного методов, позволили установить для Светлогорского района 53 вида фитопатогенных микромицетов, которые ранее в литературе для данной территории Беларуси не указывались [1-4]. Ниже приводим перечень выявленных патогенов и их хозяев – цветковых растений, принадлежащих к 41 виду.

OOMYCOTA: *Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & de Toni на *Vitis vinifera* L. ASCOMYCOTA: *Podosphaera mors-uvae* (Schwein.) U. Braun & S. Takam. на *Ribes nigrum* L.; *P. pannosa* (Wallr.) de Bary на *Rosa* sp.; *Erysiphe arcuata* U. Braun, V.P. Heluta & S. Takam. на *Carpinus betulus* L.; *E. berberidis* DC. на *Berberis thunbergii* DC.; *E. corylacearum* U. Braun & S. Takam. на *Corylus avellana* L.; *E. elevata* (Burrill) U. Braun & S. Takam. на *Catalpa bignonioides* Walt.; *E. necator* Schwein. на *Vitis vinifera* L.; *E. symphoricarpi* (Howe) U. Braun & S. Takam. на *Symphoricarpos albus* (L.) S.F. Blake; *E. syringae-japonicae* (U. Braun) U. Braun & S. Takam. на *Syringa vulgaris* L.; *E. vanbruntiana* (W.R. Gerard) U. Braun & S. Takam. на *Sambucus racemosa* L.; *Golovinomyces asterum* (Schwein.) U.

Braun на *Solidago gigantea* Ait.; *Sawadadea tulasnei* (Fuckel) Homma на *Acer platanoides* L.; *Truncatella truncata* (Lév.) Steyaert на *Cotoneaster lucidus* Schltdl. BASIDIOMYCOTA: *Naohidemyces vaccinii* (Jørst.) S. Sato, Katsuya & Y. Hirats. ex Cummins & Y. Hirats. на *Vaccinium myrtillus* L.; *Pucciniastrum epilobii* G.H. Otth на *Epilobium palustre* L.; *Cronartium pini* (Willd.) Jørst. на *Paeonia suffruticosa* Andrews; *Melampsora salicina* Desm. на *Salix acutifolia* Willd.; *M. populnea* (Pers.) P. Karst. на *Populus x canadensis* Moench и *P. tremula* L.; *Gymnosporangium sabiniae* (Dicks.) G. Winter на *Pyrus communis* L. DEUTEROMYCOTA: *Ramularia didymarioides* Briard & Har. на *Silene vulgaris* (Moench) Garcke; *R. grevilleana* (Tul. & C. Tul. ex Oudem.) Jørst. на *Fragaria x magna* Thuill.; *Ramularia* sp. на *Linaria* sp.; *Alternaria solani* Sorauer на *Solanum lycopersicum* L. (*Lycopersicon esculentum* Mill.); *A. capsici-annui* Săvul. & Sandu на *Capsicum annuum* L.; *A. grossulariae* Jacz. на *Ribes nigrum* L.; *Passalora fulva* (Cooke) U. Braun & Crous на *Solanum lycopersicum* L. (*Lycopersicon esculentum* Mill.); *P. dubia* (Riess) U. Braun на *Chenopodium album* L.; *Cercospora microsora* Sacc. на *Tilia cordata* Mill.; *Penicillium glaucum* Link. и *Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fuckel на *Malus domestica* Borkh.; *Cladosporium cucumerinum* Ellis & Arthur на *Cucumis sativus* L.; *Corynechum foliicola* Fuckel на *Amelanchier spicata* (Lam.) C. Koch; *C. sorbi* Peck на *Sorbus aucuparia* L.; *Cylindrosporium betulae* Davis на *Betula pendula* Roth; *Marssonina rosae* (Lib.) Died. на *Rosa* sp.; *Colletotrichum* sp. на *Saponaria officinalis* L.; *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. на *Malus domestica* Borkh.; *Phyllosticta* spp. на *Vaccinium myrtillus* L., *Prunus* sp., *Betula pendula* Roth., *Oenothera biennis* L.; *Ph. briardii* Sacc. на *Malus sylvestris* (L.) Mill.; *Ph. mali* Prill. & Delacr. на *M. domestica* Borkh.; *Ph. fuscozonata* Thüm. на *Rubus idaeus* L.; *Ph. prunicola* Opiz ex Sacc. на *Prunus virginiana* L.; *Ph. ribiseda* Bubák & Kabát на *Ribes nigrum* L.; *Septoria oenotherae* Westend. на *Oenothera biennis* L.; *S. pyricola* Desm. на *Pyrus communis* L.; *S. stenactidis* Vill на *Phalacrologoma annum* (L.) Dumort.; *S. virgaureae* Desm. на *Solidago virgaurea* L.; *Septoria didyma* Fuckel на *Salix acutifolia* Willd.; *Septoria salicicola* (Fr.) Sacc. на *Salix fragilis* L.

Опасность для растений Светлогорского района представляют чужеродные для Беларуси виды и внутривидовые формы патогенных микроскопических грибов и грибоподобных организмов, внедряющиеся в антропогенно нарушенные экосистемы. Микромицеты-инвайдеры из года в год вызывают поражение растений в фитоценозах вышеуказанного района, а некоторые могут рассматриваться как вполне адаптированные к местным условиям, потенциально способные привести к эпифитотиям [5-7].

Из общего числа фитопатогенных микромицетов (90 видов), выявленных нами в Светлогорском районе, чужеродными для территории Беларуси явились представители 23 видов: *Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & de Toni на *Vitis vinifera* L.; *Podosphaera mors-uvae* (Schwein.) U. Braun & S. Takam. на *Ribes nigrum* L.; *Erysiphe arcuata* U. Braun, V.P. Heluta & S. Takam. на *Carpinus betulus* L.; *E. berberidis* DC. на *Berberis thunbergii* DC.; *E. elevata* (Burrill) U. Braun & S. Takam. на *Catalpa bignonioides* Walt.; *E. howeana* U. Braun на *Oenothera biennis* L.; *E. necator*

Schwein. на *Vitis vinifera* L.; *E. palczewskii* (Jacz.) U. Braun & S. Takam. на *Caragana arborescens* Lam.; *E. symphoricarpi* (Howe) U. Braun & S. Takam. на *Symphoricarpos albus* (L.) S.F. Blake; *E. syringae-japonicae* (U. Braun) U. Braun & S. Takam. на *Syringa vulgaris* L.; *E. vanbruntiana* (W.R. Gerard) U. Braun & S. Takam. на *Sambucus racemosa* L.; *E. corylacearum* U. Braun & S. Takam. на *Corylus avellana* L.; *Golovinomyces asterum* var. *asterum* (Schwein.) U. Braun на *Aster novae-angliae* L.; *G. cucurbitacearum* (R.Y. Zheng & G.Q. Chen) Vakal. & Kliron. на *Cucurbita pepo* L.; *G. magnicellulatus* (U. Braun) V.P. Heluta на *Phlox paniculata* L.; *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter на *Pyrus communis* L.; *Cercospora beticola* Sacc. на *Beta vulgaris* L.; *Alternaria solani* Sorauer и *Passalora fulva* (Cooke) U. Braun & Crous на *Solanum lycopersicum* L. (*Lycopersicon esculentum* Mill.); *Cladosporium cucumerinum* Ellis & Arthur на *Cucumis sativus* L.; *Phyllosticta* sp. и *Septoria oenotherae* Westend. на *Oenothera biennis* L.; *S. stenactidis* Vill на *Phalacrologium annuum* (L.) Dumort.

Полученные данные могут быть использованы для инвентаризации микобиоты Беларуси, планирования мероприятий по контролю вредоносных патогенов в агрофитоценозах, написании пособий по фитопатогенным микромицетам, преподавании дисциплин микологического и фитопатологического профиля. Сведения о чужеродных для Беларуси видах фитопатогенных микромицетов, выявленных на территории Светлогорского района, будут полезны для анализа и оценки распространения чужеродных микромицетов в нашей стране, расширения круга их хозяев, что необходимо принимать во внимание при защите растений от болезней грибной этиологии.

Исследования выполнены в рамках научно-исследовательской работы «Инвазивные фитопатогенные грибы, грибоподобные организмы и беспозвоночные животные на культивируемых и близкородственных дикорастущих растениях: статус в сообществах, распространение, диагностика» (№ ГР 20211704).

Авторы выражают благодарность доценту кафедры ботаники биологического факультета БГУ В.Н. Тихомирову за помощь при определении растений.

Список литературы

1. Гапиенко О.С., Беломесяцева Д.Б., Кобзарь Н.Н. и соавт. Макромицеты, микромицеты и лишайнизированные грибы Беларуси. Гербарий Института экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича (MSK-F, MSK-L). Минск: ИВЦ Минфина, 2006: 501 с.
2. Гирилович И.С. Грибоподобные организмы (порядок Peronosporales) Беларуси. Минск: БГУ, 2013: 183 с.
3. Гирилович И.С. Мучнисторосяные грибы (порядок Erysiphales) Беларуси. Минск: БГУ, 2018: 279 с.
4. 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.
5. Поликсенова В.Д., Джус М.А., Храмцов А.К. и соавт. Чужеродные растения и фитопатогенные микромицеты в Беларуси: реальная и потенциальная опасность. Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2. Хим., биол., геогр. 2016; 3: 60-67.
6. Поликсенова В.Д., Храмцов А.К. Чужеродные фитопатогенные микромицеты Беларуси. Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2. Химия. Биология. География. 2015; 3: 43-48.
7. Дубовик Д.В., Дмитриева С.А., Ламан Н.А. и соавт. Черная книга флоры Беларуси: чужеродные вредоносные растения. Минск: Белорусская наука, 2020: 407 с.

ОБ ОДНОМ НЕОБЫЧНОМ МУЧНИСТОРОСЯНОМ ГРИБЕ

Тарасов К.Л.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Мучнистая роса на узумбарской, или африканской фиалке указывалась в литературе неоднократно, однако во всех этих случаях грибок – возбудитель болезни – фигурировал как “*Oidium* sp.” Без соответствующего видового названия. М.В. Горленко (1) предложил название «*Oidium saintpoliae*», однако не привел латинский диагноз. Мной был предложен такой диагноз, однако опубликовать его не успел. Дело в том, что видным эризофологом У. Брауном к тому времени уже был опубликован латинский диагноз для этого вида (2). Однако в этом диагнозе ни слова оговорилось о том, что М.В. Горленко считал наиболее важной его особенностью,

а именно приуроченность к лепесткам, тогда как для мучнисторосяных грибов в целом характерно поражение вегетативных частей растений (преимущественно листьев).

Список литературы

1. Горленко М.В. Мучнисторосяные грибы Московской области. (Семейство Erysiphaceae). – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983, с. 72. Ил. 19
2. Braun Uwe. The mildews (Erysiphales) of Europe. Gustav Fischer Verlag – Jena – Stuttgart – New York - 1995

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА НА СКОРОСТЬ ЗАРАЖЕНИЯ IN VITRO СТОЛОВЫХ КОРНЕПЛОДОВ МОРКОВИ И СВЕКЛЫ РАЗНЫМИ ВИДАМИ СКЛЕРОЦИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

Тихонова Т.О., Козарь Е.Г., Енгальчева И.А., Степанов В.А., Ветрова С.А., Мухина К.С.
Федеральный научный центр овощеводства, Московская область

Одной из наиболее вредоносных болезней в период хранения на корнеплодных культурах является белая гниль и тифулез, возбудителями которых являются грибы *Sclerotinia* spp. и *Typhula* spp. Виды *S. sclerotiorum*, *S. nivalis* являются наиболее распространенными, а виды *S. minor*, *S. trifolium* и *T. ishikariensis* появляются спорадически [1-4]. Экономический ущерб во всем мире

каждый год от склеротиезной гнили может достигать сотни миллионов долларов [5-7]. В условиях Московской области отмечается нарастание ее вредоносности, вследствие чего потери урожая могут достигать 80% [3]. По литературным данным искусственное заражение различных культур грибом *S. sclerotiorum* проводится в широком диапазоне температур от 10°C до 25°C [8].

Известно, что агрессивность возбудителей может меняться в зависимости от температуры, соответственно возникает вопрос корректности проведения иммунологического анализа при заражении дисков столовых корнеплодов в лабораторных условиях. Обычно по стандартной методике инкубирование зараженных дисков корнеплодов проходит при температуре 20-25°C, а учет рекомендуется делать в динамике на 7-10-14 сутки. Однако при сопоставлении результатов ранжирования образцов по группам устойчивости при оценке *in vitro*, не всегда совпадают с полевой оценкой, где оптимальная температура в период хранения корнеплодов составляет 2-4°C. Поэтому вопрос корректности используемой методики остается открытым, особенно для редко встречающихся видов возбудителей склеротиезной мягкой гнили моркови и свеклы. В связи с чем, было изучено влияние температурного режима и длительности инкубации на скорость развития и проявление симптомов поражения корнеплодов этих культур *in vitro*.

Материалы и методы исследований. В работе были использованы чистые культуры (ЧК) *S.sclerotiorum* и *S.nivalis*, *Tishikariensis* из коллекций лаборатории МИИ ФНЦО и Ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН, любезно предоставленных д.б.н. Ткаченко О.Б.; 8 образцов моркови и 4 образца свеклы лаборатории столовых корнеплодов из разных групп полевой устойчивости к белой гнили, №№: 802, 157, П-10 - восприимчивые, 800, 160, 161, П-2-90 - средневосприимчивые, 806,159,158, П-155, П-50 - относительно устойчивые. Исследования проводили в нескольких независимых опытах. В первой серии опыта изучали рост *S.sclerotiorum* в чистой культуре на среде PDA при температурах 4, 6,12, 25°C, измеряли диаметр колоний через каждые двое суток с расчетом относительной скорости роста за каждый период. Параллельно проводили искусственное заражение дисков столовых корнеплодов путем нанесения мицелиально-агаровых блоков 10-суточной культуры возбудителя, которые инкубировали при тех же температурах в течение 25 суток. Во второй серии опытов проводили аналогичное заражение дисков свеклы и моркови всеми видами склероциальных грибов и инкубировали при температурах 6, 8, 10, 22°C. Контроль – *стерильный агаровый блок* питательной среды. Повторность пятикратная. Измерение диаметра и глубины зоны поражения в первой серии проводили в динамике, во второй - однократно на 12 сутки после заражения. Распределение образцов по степени устойчивости проводили на основе сравнения среднего объема зоны поражения [9].

Результаты. Общая динамика радиального роста мицелия *S.sclerotiorum* на искусственной питательной среде и диаметра зоны поражения на дисках моркови на фоне разных температур имела стандартный вид S-образных кривых, с более длительной log-фазой и пологими экспонентами интенсивного роста при пониженных температурах. При этом относительная скорость линейного роста в процессе развития патогена на дисках имела волновую динамику с двумя максимумами (рис.1). В чистой культуре при разных температурах первый максимум отмечен на 2-4 сутки культивирования, причем скорость при 12°C, 6°C и 4°C соответственно в 1,3, 2,4 и 4 раза была ниже, чем при 25°C. Второй максимум по мере снижения температуры наступал позже, и также снижалась скорость нарастания мицелия. В отличие от чистой культуры, оба пика скорости роста диаметра зоны поражения *S. sclerotiorum* дисков при 25°C и 12°C практически совпали (4 и 8 сутки после заражения), хотя пик скорости распространения патогена вглубь корнеплода

при 12°C регистрировался на двое суток позже, чем при 25°C, а при 4°C он смещался на шесть суток (рис.1).

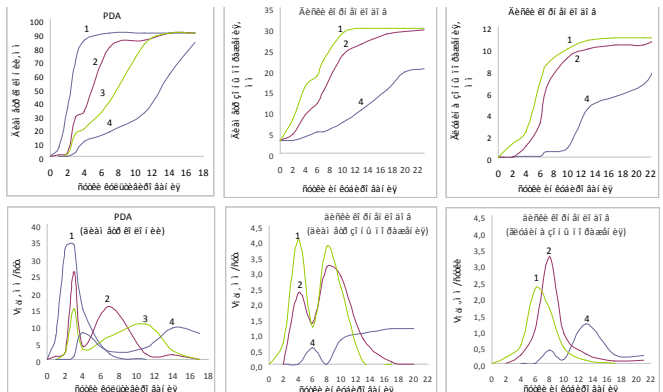


Рис. 1. Общая динамика развития и относительная скорость ($V_{0.1}$) роста *S.sclerotiorum* в условиях *in vitro*: диаметр колонии на питательной среде (PDA); диаметр и глубина зоны поражения на дисках корнеплодов моркови (средне по всем генотипам) при разных температурах - 25°C (кривая 1), 12°C (кривая 2), 6°C (кривая 3) и 4°C (кривая 4).

Поскольку на природном субстрате идет объемное распространение мицелия патогена, то для ранжирования генотипов по степени устойчивости в условиях *in vitro* более информативным критерием является средний объем зоны поражения. Объективность иммунологической оценки при этом будет зависеть от выбора параметров ее проведения: температурного режима и длительности инкубации дисков корнеплодов после заражения. Сравнительный анализ показал, что наиболее четко образцы распределились в соответствии с их группой полевой устойчивости, выявленной ранее на естественном инфекционном фоне в период хранения, при температуре 12°C на 10-14 сутки. При других температурных режимах сортовая дифференциация была выражена слабо (рис.2).

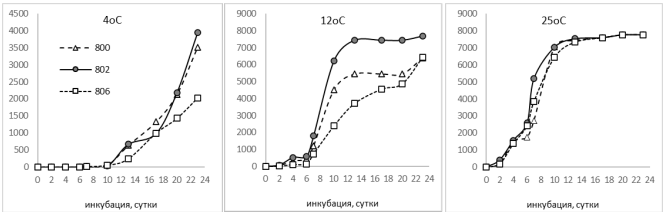


Рис. 2. Динамика увеличения среднего объема зоны поражения дисков корнеплодов моркови *S.sclerotiorum* в условиях *in vitro* в зависимости от температуры инкубации (4°C, 12°C, 25°C) и устойчивости образца: №800 – восприимчивый, №802 – средневосприимчивый; №806 – относительно устойчивый.

В следующую серию независимых опытов было включено пять образцов моркови и четыре образца свеклы столовой из разных групп устойчивости к белой гнили. Заражение проводили тремя видами возбудителей *S.sclerotiorum*, *S.nivalis* и *Tishikariensis*. Характер развития *S.sclerotiorum* на корнеплодах свеклы *in vitro* несколько отличается от моркови столовой. Тем не менее, как и в первом опыте, на 12 сутки инкубирования образцы обеих культур наиболее четко ранжировались по степени устойчивости (согласно оценке на естественном инфекционном фоне) при 10°C, где скорость поражения дисков свеклы столовой ряда образцов была выше, чем при 22°C (рис.3).

Скорость поражения корнеплодов *S.nivalis* и *Tishikariensis* при искусственном заражении была существенно ниже, чем *S.sclerotiorum*, а средний объем зоны поражения на момент учета в 2-10 раз был меньше в зависимости от культуры, сорта и температуры. Причем,

в отношении возбудителя тифулеза сортовые отличия в устойчивости генотипов обеих культур проявились только на фоне высокой температуры, где *T. ishikariensis* на культуре моркови проявил агрессивность только на двух образцах №160 и №161, средневосприимчивых к *S.sclerotiorum*. Таким образом, изучение патогенных свойств различных видов склероциальных фитопатогенов в рамках оптимизации методики оценки их агрессивности и устойчивости к ним образцов корнеплодных овощных культур позволило заключить, что при иммунологической работе с *S.sclerotiorum* рекомендуется инкубировать зараженные диски при 10-12°C, а с *T.ishikariensis* при 20-22°C в течение 10-14 суток.

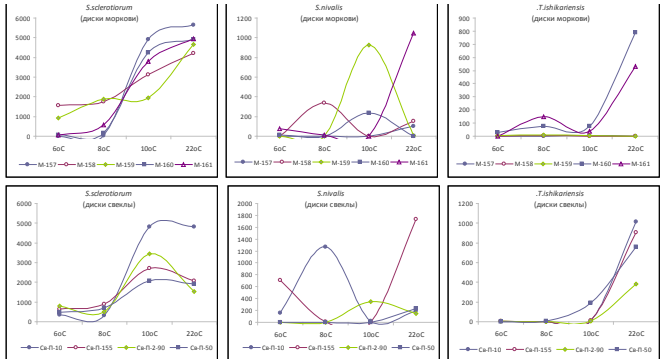


Рис. 3. Средний объем зоны поражения дисков корнеплодов различных образцов моркови и свеклы столовой на 12 сутки инкубирования при температурах 6°C, 8°C, 10°C и 22°C в условиях *in vitro*.

При заражении *S.nivalis* отмечена высокая видо- и сортоспецифичность реакции, и каких-либо общих закономерностей влияния температуры на скорость патогенеза этого вида выявить в данном эксперименте не удалось. Максимальный объем зоны поражения *S. nivalis* у образца свеклы П-155 был зарегистрирован при 6°C, у образцов моркови №158 и свеклы П-10 – при 8°C, у образцов №159, 160 и П-90 при - 10°C, а у образцов

№161 и П-155 - при 25°C. Образец моркови №157 (линия из сорта Марлинка) проявил высокую устойчивость ко всем видам склероциальных грибов, а среди образцов свеклы столовой интерес с этой точки зрения представляет линия П-2-90 (линия из сорта Добрыня).

Список литературы

1. Fatehpuria, P.K., Sasode, R.S., Kaurav, A.S., Triverdi, Pandya, R.K.,2020. Management Prospects against Stem Canker of Mustard. Current Research and Innovations in Plant Pathology, p.33.

2. Сазонова Л.В., Власова Э.А. Корнеплодные растения (морковь, сельдерей, петрушка, пастернак, редис, редька). Л.: Агропромиздат. Ленингр. отд-ние,1990-296 с.

3. Clarkson, J.P.; Staveley, J.; Phelps, K.; Young, C.S.; Whipps, J.M. Ascospore release and survival in Sclerotinia sclerotiorum. Mycol. Res. 2003, 107, 213–222.

4. Тимина Л.Т., Енгальчева И.А. Комплекс патогенов на овощных культурах в условиях Центрального региона РФ. Овощи России. 2015; 3-4 (28-29): 123-129.

5. Ficker, A. Sclerotinia sclerotiorum Impacts on Host Crops; Iowa State University: Ames, IA, USA, 2019.

6. Carpenter, K.A.; Sisson, A.J.; Kandel, Y.R.; Ortiz, V.; Chilvers, M.I.; Smith, D.L.; Mueller, D.S. Effects of Mowing, Seeding Rate, and Foliar Fungicide on Soybean Sclerotinia Stem Rot and Yield. Plant Health Prog. 2021, 22, 129–135.

7. Aldrian, P; Valásková, V. Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. FEMS Microbiol. Rev. 2008, 32, 501–521.

8. Phillips AJL (1994) Influence of fluctuating temperatures and interrupted periods of plant surface wetness on infection of bean leaves by ascospores of Sclerotinia sclerotiorum. Ann Appl Biol 124: 413–427.

9. Тихонова Т.О., Козарь Е. Г., Енгальчева И. А., Степанов В.А. Скрининг коллекционных образцов моркови столовой и поиск источников устойчивости к белой гнили . Таврический вестник аграрной науки. 2023. № 4 (36). С. 159–173. EDN: KJNHPS. DOI: 10.5281/zenodo.10280831.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ VITIS VINIFERA В 10-15-ЛЕТНИХ НАСАЖДЕНИЯХ ВИНОГРАДНИКА УЗБЕКИСТАНА

Тураева Б.И., Махкамов А.М.
Институт микробиологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Перспективы развития виноградарства зависят от потребностей мирового рынка, конкурентоспособности продукции, снижением экспортных возможностей и уменьшением объемов производства.. Виноград заражается болезнями, распространяемыми многими вредными микроорганизмами. Оидиум или мучистая роса (*Uncinula necator*), антракноз (*Gloeosporium ampelophagum*), церкоспориоз (*Cercospora vitis*), серая гниль (*Botrytis cinerea*), чёрная гниль (*Phoma lenticularis*), некроз (*Rhacodiella vitis*), бактериальный рак (*Bacterium tumefaciens*) эти заболевания распространены Vitis vinifere. Заболеваемость в основном распространяется на многолетнем растении в почве земельного участка и стебелх ежегодно на виноградниках наблюдается поражение фитопатогенными микроорганизмами. Фитопатоген *Alternaria alternata*-, является паразитом на многих сельскохозяйственных культурах. Из почвенной микрофлоры выделены микромицеты *Ascochyta fabae*, *Alternaria tenuissima*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium culmorum*, *F.oxysporum*, *F.solani*, *Ulocladium botrytis*. Благоприятными условиями для развития фитопатогенных

микромицетов видов *Alternaria* и *Aspergillus* являются высокая влажность и температура. Регулярное применение химических средств против микроорганизмов приводит к повышению адаптивности и жизнеспособности фитопатогенов, а также к высокому уровню поражения виноградных насаждений и полной гибели урожая [6]. Микотоксины –синтезируемые фитопатогенными микромицетами, вызывают болезни винограда оказывают влияние на продукцию и вызывают серьезные потери урожая [7]. В исследованиях отобраны образцы стеблей, листьев, плодов и корневой ризосферы зараженных сортов винограда. Для выделения микрофлоры винограда стебли, плоды и листья очищали 10 раз с 3% перекисью водорода, спиртом и дистиллированной водой. Подготовленные для микробиологического анализа образцы высевали на мясо-пептонный агар (МПА), картофельно-декстрозный агар (КДА) а также на питательную среду Чапека инкубировали в термостате при температуре 20-38°C. Выросшие чистые изоляты фитопатогенных микромицетов выделяли методом пересева на питательные среды. Для изучения антагонистической

активности отобраны штаммы *Fusarium* sp. и *Alternaria* sp. их выращивали в течение 5 суток в чашках Петри на питательной среде КДА при температуре 26 °C. Для посева использовали суспензию штаммов *Fusarium* sp. и *Alternaria* sp. с концентрацией 10^{6-7} спор/мл. Из выделенных штаммов вырезали блоки толщиной 0,8 мм накладывали обратной стороной на чашки. Для исследования патогенности изучаемых микромицетов использовали не повреждённые листья винограда (*Vitis vinifera*). Эти листья промывали 10 раз в 3%-ном растворе перекиси водорода, а также в стерильной дистиллированной воде. Во влажные камеры с фильтровальной бумагой на предметное стекло пинцетом раскладывали листья и заражали их суспензией *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. Чашки культивировали в инкубаторе при 26 °C. Через 7 дней оценивали, определяли площадь поражения листьев. Морфолого культуральные признаки микромицетов изучали под микроскопом идентификация проводилась по признакам М.А. Литвинова, В.И. Билай и атлас Н.М.Пидопличко. Эксперименты проводили в трех повторностях, среднее и стандартную ошибку (SE) значений рассчитывали в Microsoft Excel (Microsoft Corporation, США). Достоверное отличие полученных результатов от контрольного значения при $P < 0,05$ анализировали в программе ANOVA.

Из виноградных плантаций выращенных в садах Ургутского района Самаркандской области и Алтырыкского района Ферганской области Узбекистана отобраны образцы 10- и 15-летних сортов Белый, Черный «Кишмиш» и «Ризамат» проведено изучение микрофлоры образцов. На 3 день исследований проводили микроскопирование выросших изолятов. Установлено, что выросшие колонии изолятов по культурально морфологическим признакам относятся к роду *Alternaria*, *Penicillium* sp. и *Fusarium* sp.



Рис. 1. Микрофлора вегетативных органов винограда (стебель, лист, плоды)

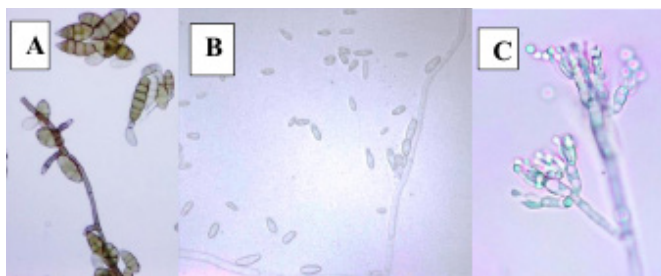


Рис. 2. Микроскопии (А) *Alternaria* sp., (В) *Fusarium* sp. и (С) *Penicillium* sp. выделенных из виноградной лозы.

Микромицеты *Fusarium* и *Alternaria* являются репрезентативными изолятами основных токсигенных родов, поражающих потребляемый населением виноград. В научных источниках доказано, что они вырабатывают такие токсичные вещества, как охратоксин А, фумонизины и патулин. Изучена микрофлора 10-15-летних зараженных насаждений винограда. *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. выделены микромицеты идентифицировали по морфологическим признакам.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ *FUSARIUM* - ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАЗАЛЬНОЙ ГНИЛИ ЛУКА РЕПЧАТОГО (*ALLIUMCEPA*) В ЦЕНТРАЛЬНОМ РЕГИОНЕ РФ

Ветрова С.А.¹, Алехина К.С.¹, Енгальчева И.А.¹, Чижик В.К.^{1,2}

¹ Федеральный научный центр овощеводства, ВНИИССОК МО

² ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии, Москва

Лимитирующим фактором обеспеченности товарной продукцией лука репчатого в зимне-весенний период являются потери урожая при хранении вследствие поражения фузариозной базальной гнилью [1-3]. В странах, где сосредоточено производство лука, помимо наиболее распространенного возбудителя базальной гнили - гриба *Fusarium oxysporum* var. *secae*, сообщается о возможности участвовать в патогенезе видов *F. proliferatum*, *F. culmorum*, *F. solani*, *F. redolens*, *F. falciforme*, *F. brachyglabrum*, *F. anthophilum*, *F. acutatum* [2, 4-7]. В настоящее время в России отсутствуют данные по составу патоконгломерата *Fusarium* spp., вызывающих базальную гниль лука. Цель данного исследования - проведение видовой идентификации грибов рода *Fusarium*, вызывающих базальную гниль лука репчатого, и оценки их патогенности в отношении растения-хозяина.

Методы исследований. Объекты исследований - 20 изолятов *Fusarium* spp., выделенных в условиях Московской области с пораженных зрелых луковиц и севка. Грибы культивировали на картофельно-декстрозной агаризованной среде (PDA) в течение 14 суток в условиях переменного освещения при температуре 25 °C. Видовую идентификацию изолятов осуществляли с использованием анализа нуклеотидных последова-

тельностей трех генетических локусов *ITS*, *tefl* и *rpb2*. Полученные нуклеотидные последовательности этих локусов у изучаемых изолятов сравнивали с референсными последовательностями из базы данных NCBI и курируемой базы данных FUSARIOID-ID. Окончательный результат по таксономической принадлежности делали на основании их макро- и микроморфологической характеристики. Оценку патогенности проводили на двух контрастных по устойчивости сортах лука репчатого Глобус (восприимчивый) и Атаас (устойчивый) путем нанесения мицелиальных блоков десятисуточной культуры грибов *Fusarium* на высечки из сочных чешуй зрелых луковиц [8]. Исходя из объема зоны поражения (Vп) высечек сочных чешуй луковиц, изоляты грибов дифференцировали на группы: непатогенные $V_a = 0 \text{ мм}^3$; слабоагрессивные $V_a = 1-50 \text{ мм}^3$; среднеагрессивные $V_a = 51-150 \text{ мм}^3$ и сильноагрессивные $V_a \geq 151 \text{ мм}^3$.

Результаты. При визуальной диагностике симптоматики фузариозной гнили на луковицах установлено, что в 32% случаев симптомы болезни проявлялись в виде поражения всей луковицы, в остальных случаях - отдельных ее частей: донца, шейки, центральной части. Впервые в структуре патоконгломерата возбудите-

лей фузариозной базальной гнили на луке репчатом в Центральном регионе РФ идентифицированы 4 вида: *F. annulatum* (12 штаммов) - *F. fujikuroi* species complex, *F. oxysporum* (5 штаммов)- *F. oxysporum* species complex, *F. acuminatum* (2 штамма) - *F. tricinctum* species complex и *F. solani* (1 штамм)- *F. solani* species complex.

Колонии разных видов различались между собой по характеру и скорости роста, цвету, плотности мицелия и образованию пигментов. Виды *F. annulatum* и *F. oxysporum* формировали большое количество микроконидий и немногочисленные макроконидии, очень схожие по внешнему виду. Главным отличительным признаком при микроскопировании штаммов этих видов было наличие хламидоспор в мицелии *F. oxysporum*, и полное их отсутствие у *F. annulatum*. Штамм *F. solani* продуцировал большое число широких крупных макроконидий и единичные крупные двухклеточные микроконидии, а также хламидоспоры. *F. acuminatum* формировал отличные от других изогнутые микроконидии и макроконидии в небольшом количестве, без образования хламидоспор.

Табл. 1. Агрессивность изолятов *Fusarium* в отношении разноичных по устойчивости сортов лука

Штамм	Стадия развития	Место локализации	Вид	Степень агрессивности (по среднему значению объема зоны поражения по двум сортам)	Объем зоны поражения, мм ³		
					среднее по двум сортам	по сорту Атас	по сорту Глобус
Контроль					0 ^a	0 ^a	0 ^a
F-A-23-2	зр. лук.*	донце	<i>F. annulatum</i>	слабоагрессивный	2 ^a	0 ^a	4 ^a
F-A-23-1	зр. лук	шейка	<i>F. annulatum</i>	слабоагрессивный	2,5 ^a	4 ^a	1 ^a
F-A-23-8	севок	донце	<i>F. annulatum</i>	слабоагрессивный	3,3 ^a	0 ^a	6,5 ^a
F-A-23-3	зр. лук	шейка	<i>F. annulatum</i>	слабоагрессивный	11,2 ^a	3,3 ^a	19 ^a
F-A-23-9	севок	донце	<i>F. annulatum</i>	слабоагрессивный	20,5 ^{abc}	12 ^a	29 ^a
F-A-23-6	севок	донце	<i>F. oxysporum</i>	слабоагрессивный	2,5 ^a	5 ^a	0 ^a
F-A-23-7	севок	донце	<i>F. oxysporum</i>	слабоагрессивный	6,5 ^a	13 ^a	0 ^a
F-A-23-4	зр. лук	шейка	<i>F. oxysporum</i>	слабоагрессивный	11,5 ^a	0 ^a	23 ^a
F-A-23-11	севок	центральная часть	<i>F. oxysporum</i>	слабоагрессивный	23,5 ^{abc}	34 ^a	13 ^a
F-A-23-10	севок	донце	<i>F. solani</i>	слабоагрессивный	8,5 ^a	4 ^a	13 ^a
F-A-23-24	зр. лук	вся луковица	<i>F. annulatum</i>	среднеагрессивный	88,5 ^{abcd}	177 ^{bc}	0 ^a
F-A-23-20	зр. лук	вся луковица	<i>F. annulatum</i>	среднеагрессивный	98 ^{abcd}	69 ^{ab}	127 ^{abc}
F-A-23-21	зр. лук	шейка	<i>F. annulatum</i>	среднеагрессивный	118,5 ^{abcd}	30 ^a	207 ^{abcd}
F-A-23-5	севок	вся луковица	<i>F. acuminatum</i>	среднеагрессивный	121 ^{abcd}	0 ^a	242 ^{bcd}
F-A-23-19	зр. лук	донце	<i>F. acuminatum</i>	среднеагрессивный	142,5 ^{abcd}	209 ^c	76 ^{ab}
F-A-23-23	зр. лук	донце	<i>F. oxysporum</i>	сильноагрессивный	152 ^{bcd}	90 ^{ab}	207 ^{bcd}
F-A-23-17	зр. лук	донце	<i>F. annulatum</i>	сильноагрессивный	155 ^{abcd}	103 ^{ab}	207 ^{abcd}
F-A-23-18	зр. лук	шейка	<i>F. annulatum</i>	сильноагрессивный	167 ^{cd}	18 ^a	316 ^{cde}
F-A-23-27	зр. лук	вся луковица	<i>F. annulatum</i>	сильноагрессивный	230 ^d	110 ^{ab}	350 ^{de}
F-A-23-25	зр. лук	вся луковица	<i>F. annulatum</i>	сильноагрессивный	235 ^d	20 ^a	450 ^e

Примечание. зр. лук.*- зрелая луковица. Значения объема зоны поражения рассчитаны по десяти повторениям (для среднего значения по двум сортам) и по пяти повторениям (для значений по одному сорту Атас или Глобус). Комбинации разных букв (a-e) рядом с числовыми значениями указывают на существенную разницу (p = 0,05) внутри групп средних значений, по сорту Атас и по сорту Глобус

Средне и сильноагрессивные изоляты видов *F. acuminatum*, *F. oxysporum* и *F. annulatum* в отношении устойчивого (Атас) и восприимчивого (Глобус) сортов показали сортовую специфику реакции на заражение (таблица 1).

Большая доля (80%) анализируемых штаммов оказались слабоагрессивными по отношению к устойчивому сорту. При заражении данными штаммами симптомы в одном случае отсутствовали, в другом - объем зоны поражения при искусственной инокуляции луковицы был менее 50 мм³. Только два анализируемых штамма F-A-23-24 (*F. annulatum*) и F-A-23-19 (*F. acuminatum*) проявили высокую агрессивность в отношении устойчивого сорта Атас (Va=170-201мм³), но вызывали противоположную реакцию на восприимчивом сорте Глобус. Семь

Внутри каждой видовой популяции *Fusarium* были выделены контрастные по патогенности классы изолятов. На процентное соотношение крайних классов оказывали влияние как анализируемые виды *Fusarium*, так и уровень устойчивости включенных в исследование сортов лука. Так, наибольшая доля высокоагрессивных штаммов по отношению к зрелым луковицам была зарегистрирована у вида *F. annulatum* (33%), слабоагрессивных - у вида *F. oxysporum* (80% от числа изученных). Два штамма *F. acuminatum* в среднем проявили среднюю степень агрессивности, а единственный штамм *F. solani*, выделенный с севка, был слабоагрессивен по отношению к растению-хозяину. Симптомы при естественном заражении и искусственной инокуляции чешуй лука всеми высокоагрессивными штаммами анализируемых видов *Fusarium* были идентичны. Инокуляция сочных чешуй луковиц слабопатогенными штаммами анализируемых видов практически не вызывала характерных симптомов поражения.

других анализируемых изолятов на восприимчивом сорте Глобус вызвали четко выраженные симптомы гнили с объемом зоны поражения Va ≥150 мм³. Наибольшей агрессивностью обладали штаммы вида *F. annulatum* F-A-23-25 и F-A-23-27, имеющие более высокую значимую зону поражения (Va =207-450 мм³ при P ≤ 0,05).

Таким образом, в результате проведенного исследования были получены новые знания о разнообразии и патогенности грибов рода *Fusarium*, вызывающих фузариозную базальную гниль лука в Центральном регионе России. Впервые была продемонстрирована высокая агрессивность штаммов *F. annulatum* в отношении лука и способность вызывать базальную гниль на данной культуре.

Список литературы

1. Summerell B.A. Resolving Fusarium: Current status of the genus. Annu. Rev. Phytopathol. 2019, 57, 323–339.
2. Kalman B., Abraham D., Graph Sh., et al. Isolation and Identification of Fusarium spp., the Causal Agents of Onion (*Allium cepa*) Basal Rot in Northeastern Israel. 2020 Apr 2;9(4):69. doi: 10.3390/phyto9040069.
3. Sharma S, Cramer CS. Selection Progress for Resistance to Fusarium Basal Rot in Short-Day Onions Using Artificial Inoculation Mature Bulb Screening. Horticulturae. 2023. 9(1). DOI:10.3390/horticulturae9010099
4. Haapalainen M., Kuivainen E., Iivonen S., Niemi M., Latvala S. Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium proliferatum* isolates from symptomless onions (*Allium cepa*) and onions with *Fusarium* basal rot. Plant Pathology. 2023. Vol. 72, № 6. P. 1122–1135. DOI:10.1111/ppa.13718
5. Stankovic S.; Levic J.; Petrovic T.; Logrieco A.; Moretti A. Pathogenicity and mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolated from onion and garlic in Serbia. Eur. J. Plant Pathol. 2007, 118, 165–172.
6. Tirado-Ramírez M. A., López-Orona C.A., Velázquez-Alcaraz T. et al. First Report of Onion Basal Rot Caused by *Fusarium falciforme* in Mexico. Plant Disease. 2018. 102(12). P.2646. DOI:10.1094/PDIS-05-18-0757-PDN
7. Sogoba K. Hamidou KK, Alassane O et al. Pathogenic characterization of three *Fusarium* species associated with onion (*Allium cepa* L.) in Burkina Faso. International Journal of Phytopathology. 2022. 11(03). P. 267–276. DOI:10.33687/phytopath.011.03.4327
8. Tsuji M, Kadota I. BACTERIAL AND PHYTOPLASMA DISEASES Identification and phylogenetic analysis of *Burkholderia cepacia* complex bacteria isolated from rot of onion bulbs in Tohoku region of Japan. Journal of General Plant Pathology. 2020. 86:376–386. DOI:10.1007/s10327-020-00937-z 1 3

ПРОБЛЕМА ГИБЕЛЛИНОЗА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ И МЕРЫ БОРЬБЫ С НИМ.

Жалиев В.В., Жалиева Л.Д.

Кубанский ГАУ им. И.Т. Трубилина, Краснодар

Гибеллина является очень вредоносным заболеванием пшеницы (вызывается грибом *Gibellina cerealis* Pass.). Если до 2011г. данное заболевание диагностировалось эпизодически на юге России. То с 2011г- года эпифитотии гибеллиноза на Ставрополье, когда сильное развитие его отмечалось в двадцати четырёх из двадцати шести районах края – заболевание принимает на юге характер хронической эпифитотии. С этого времени оно проявляется в сильной степени практически каждый год или на отдельных полях в отдельных районах, или массово в Ставропольском и Краснодарском крае. В 2011- 2013гг. при проведении маршрутных обследований мы отмечали единичные пораженные растения озимой пшеницы на территории Ростовской и Волгоградской областях. В 2014-2017гг так же при проведении маршрутных обследований мы отмечали единичные пораженные растения озимой пшеницы на территории Воронежской области.

Диагностика данного заболевания затруднена, так как пораженные растения имеют идентичные симптомы с другими заболеваниями как мучнистая роса, ризоктониоз и церкоспореллез.

Данное заболевание в какой-то степени схоже по биологическим особенностям с офиоболозом. Как известно для одного и для другого очень важным является наличие пораженных растительных остатков и способность патогенов к многолетнему развитию.

В наших исследованиях мы использовали методы маршрутных обследований полей (2004 - 2022гг) и лабораторные методы выделения и идентификации патогенов. А изучение влияния элементов технологии возделывания озимой пшеницы на развитие гибеллиноза и разработку мер борьбы с ним с использованием протравителей, фунгицидов различных отечественных и зарубежных фирм, биопрепаратов на основе разных видов триходермы проводили в производственных опытах в Ставропольском крае в АгроФирмы «Моя Мечта» Новоселецкого района в 2010 -2013гг, СПК колхозе «Родина» Новоселецкого района 2014г, ЗАО совхоз им Кирова Труновского района 2016- 2020г. и в отделениях АгроФирмы «Золотой Нивы» 2011-2015гг. На полях где закладывались опыты проводили отбор почвенных проб с дальнейшей фитоэкспертизой, изучалась динамика патогенной и полезной микобиоты.

Когда анализируются причины гибеллинозного проявления на том или другом поле необходимо рассматривать историю данного поля в течении минимум

3-4 лет. Необходимо анализировать не только культуры, возделываемые на этом поле, но и способ подготовки, т.е. обработку почвы. Если в течение этих лет на поле проводилось чередование поражаемых культур с не поражаемыми и чередовалась соответственно пахота с оборотом пласта и минимальная обработка почвы – распространение болезни снижалось. Так в наших опытах на поле при чередовании озимой пшеницы, черный (классический)пар, озимая пшеница, озимая пшеница. распространение гибеллиноза составило 25%, а при чередовании по годам – озимый рапс, озимая пшеница, подсолнечник, озимая пшеница отмечалось только единичное поражение.

Вредоносность гибеллиноза высокая. Так в 2011г в Ставропольском крае Новоселецком районе в хозяйстве «Моя мечта» при распространении данного заболевания 3-5% урожай зерна составил 61,6ц/га, а при распространении 65% - всего 22ц/га.

В результате проведенных опытов была выявлена большая роль агротехнических методов защиты растений и, особенно, - обработки почвы – способствующего изоляции растений от непосредственного контакта с пораженными остатками. Изучение применения только химических мер борьбы с данным заболеванием показало их низкую эффективность (как отдельных вариантов применения протравителей или фунгицидов, так и их сочетание). Самые лучшие варианты их применения обеспечивали 38-50% эффективность. Проведя многолетний анализ проявления данного заболевания, эффективности протравителей и применения обработок растений по вегетации был сделан вывод, что в борьбе с данным заболеванием эффективен только комплекс мероприятий. Был разработан этот комплекс мероприятий:

1.- на поле сразу после уборки урожая необходимо провести работу с растительными остатками (для ускорения трансформации растительных остатков)

- опрыскивание стерни раствором:

А) при влажных условиях, препаратом на основе грибов из рода *Trichoderma* (*Trichoderma harzianum* Rifai)– Глиокладин из расчета не менее 5л/га + 1 л. Лигногумата на 200 л. воды в вечерние часы с последующим немедленным лушением стерни.

Б) при сухих погодных условиях- на 200 л. воды на каждый гектар в физическом весе 30-50 кг. аммиачной селитры + 1 л. Лигногумата с последующим немедленным лушением стерни.

2 – борьба с сорной растительностью (особенно со злаковыми сорняками) и вредителями (особенно со злаковыми мухами, галлицами)

3 – пахота на глубину 22-25 см. с оборотом пласта; - далее в течение двух - трёх лет поле не пахать, применять минимальные обработки.

4 – севооборот (уход от вторичных посевов озимой пшеницы и чередованием злаков с широколиственными культурами)

5- применение протравителей семян, эффективных против комплекса патогенов (фузариозной, питиозной, ризоктониозной инфекции). В наших опытах лучшие результаты показали препараты на основе флудиоксо-нила :МАКСИМ ЭКСТРИМ кс(18,7+ 6,25г/л)= 1,75л/т, Максим плюс к.с.(25 +25г/л) 1,5л/т., Максим форте к.с.(25+15+10г/л) 1,75л/т; Селест Топ к.с.(262,5+25+25г/л) 1,5л/т;

6 – посев в оптимальный срок сева для данной зоны (чтобы получить всходы до наступления устойчивой температуры плюс 10-12 °С)

7 – оптимальная глубина заделки семян (3-5см.)

8 – При продолжительной теплой (и, особенно если влажная) осени - обработка посева в фазе 3 листа-нача-

ло кушения фунгицидом с защитно-физиологическим действием с регулятором роста растений. В наших опытах лучшие результаты были достигнуты с применением Амистар трио 1л/га совместно с Модусом 0,2л/га.

9 – При благоприятных условиях ранневесеннее применение биопрепарата на основе *Trichoderma viride* PERS., (именно этого вида триходермы)

10 – сбалансированное внесение минеральных удобрений. Формы аммония азота типа сульфата аммония должны использоваться под основную обработку почвы или при посеве как первичный источник азота в течение одного - двух лет после вспышки болезни.

11 – обработка посевов в весенний период до фазы второй узел совместно с гербицидом или с инсектицидом (в зависимости от складывающейся ситуации на поле) фунгицидами с защитно-физиологическим действием. В наших опытах лучшие результаты были достигнуты с применением Амистар трио к.э. (125+100+30кг/л) – 1,0 л/га;

Выполнение всех пунктов этого комплекса мероприятий позволило привести к недопущению заражения растений возбудителем гибеллиноза (и офиоболёза, т.е. трудно убиваемых возбудителей гнилей).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАТОГЕННОСТИ И ФИТОТОКСИЧНОСТИ НОВЫХ ШТАММОВ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ ГОСУДАРСТВЕННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ФГБНУ ВНИИФ

Жемчужина Н.С., Киселева М.И.

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Московская область

Оценка изменчивости микромицетов из родов *Fusarium* и *Bipolaris*, в том числе по уровню патогенности и фитотоксичности, имеет значение для отбора и пополнения коллекции штаммами микромицетов [1, 2]. Штаммы и изоляты этих видов грибов занимают важное место в коллекции, которая служит для поддержания указанных микроорганизмов в жизнеспособном состоянии, сохранения их патогенных свойств и для обеспечения инфекционным материалом исследований фитопатологического, иммунологического, селекционного, генетического и токсикологического плана [3, 4].

Известно, что на развитие микромицетов, синтезирующих токсины в тканях сельскохозяйственных растений, большое влияние оказывают такие факторы среды, как неблагоприятные погодные условия, низкая агротехника, несоблюдение севооборотов, наличие монокультуры [5, 6]. Способность этих грибов провоцировать негативное влияние на формирование урожая зерновых во многом зависит от фитотоксичности. Возбудители ферментов и токсинов, вызывая локальные разрушения клеток и приводят их содержимое в состояние, доступное для питания [7-9]. Токсины грибов нарушают обмен веществ растений и замедляют физиологические процессы, в конечном итоге, это приводит к понижению сопротивляемости болезни и усилению патологического процесса [10, 11].

Продуцируемые патогенами микотоксины являются основным фактором развития болезни растений. Так, исследованиями Н.И. Михайлиной (1982) показано, синтезируемые *B. sorokiniana* метаболиты такие, как гелиминтоспорол, гелиминтоспорал, ви́токсин, цитокинин и др., оказывают угнетающее воздействие на развитие проростков пшеницы [12]. При сравнительном изучении патогенных и фитотоксичных свойств грибов

из родов *Fusarium*, *Alternaria* и *Bipolaris* было выявлено, что последний оказался самым вредоносным [13].

Изучение видового состава грибов из родов *Fusarium* и *Bipolaris*, собранных на посевах сельскохозяйственных культур в Российской Федерации, и установление спектра патогенности и фитотоксичности микромицетов для пополнения коллекции являлись целью исследований.

Материалом для исследований служили растения районированных сортов пшеницы, ячменя, кукурузы и подсолнечника, собранных на посевах этих культур в Центрально-Черноземном, Центральном и Поволжском районах РФ. Опыты проводили на оборудовании ЦКП ГКФМ ВНИИФ.

Изоляцию микромицетов из пораженных тканей растений проводили с использованием голодного, картофельно-глюкозного и картофельно-морковного агара. Грибы из образцов растений выделяли в чистую культуру по стандартной методике [14, 15]. Для этого отмытые водопроводной водой больные растения каждого образца разрезали на фрагменты размером 2-4 мм, стерилизовали в 70% спирте в течение 5-10 секунд и в асептических условиях раскладывали на поверхность 2% картофельно-глюкозного агара в чашки Петри (по 4-6 фрагментов в каждую). Каждый образец был представлен не менее чем 100 фрагментами пораженной ткани. Чашки Петри помещали в термостат с температурой 24-26°C. По мере роста колоний грибы отсеивали кусочком мицелия на питательную среду в центр чашки Петри. Отмечали культуральные (форма и цвет колонии, интенсивность роста) и морфологические особенности (размер конидий, характер их изогнутости, форму верхней клетки, наличие ножек у основания и образование хламидоспор). Чистые культуры грибов просматривали под микроскопом и по морфологии

спор определяли таксономическую принадлежность микроорганизмов. В качестве справочной литературы использовали определители [16-19]. Современный таксономический статус видов уточняли по адресу <http://www.indexfungorum.org/>.

Изоляты грибов, выделенные из пораженных образцов растений, помещали на хранение в лабораторию ГКФМ ФГБНУ ВНИИФ.

Патогенные и токсичные свойства штаммов изучали, используя метод биопробы на семенах [20]. 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 ростка и первичных корней пшеницы, однако основным показателем считали длину корней. 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%.

В результате микологических исследований из 8 образцов пораженных растений пшеницы, ячменя, подсолнуха и кукурузы были выделены более 500 изолятов, относящихся к сапротрофным и гембиотрофным грибам. Патогенные и фитотоксичные свойства были изучены у 7 видов грибов. В общей сложности изучены 44 изолята: 10 - *Fusarium heterosporum*, 8 - *Fusarium oxysporum*, 7 - *Cochliobolus sativus* (*Bipolaris sorokiniana*) - были изолированы из пораженных тканей пшеницы, ячменя, подсолнечника; 2 - *Fusarium acuminatum*, 3 - *Fusarium redolens* - подсолнечника, ячменя; 11 - *Fusarium culmorum*, 3 - *Fusarium roseum* - пшеницы, кукурузы, подсолнечника.

Изоляты микромицетов, изолированные из пораженных тканей культур, варьировали по признакам патогенности и фитотоксичности. Штаммы *B.sorokiniana*, в основном, характеризовались умеренно и слабопатогенными свойствами (по 43%), но проявляли высокую токсичность к проросткам пшеницы (72% - токсичные, 28% умеренно-токсичные). Изоляты *F.acuminatum* оказались непатогенными и слаботоксичными. У 11 изолятов *F.culmorum* и 10 - *F.heterosporum* отмечали весь спектр уровней патогенности, примерно в равных соотношениях, но практически все относились к умеренно и высокотоксичным (45,5% и 54,5% - для первого и 50% и 40% - для второго). Изоляты *F.redolens* и *F.roseum* были слабопатогенными (по 100%) и слабо- и умеренно токсичными (33% и 67%). Изоляты *F.oxysporum* были непатогенными и слабопатогенными (по 50%), а уровень фитотоксичности варьировал от слаботоксичного до токсичного, последний превалировал и достигал 75%.

Таким образом, показано, что патогенная активность у грибов как между видами *Fusarium*, так и в пре-

делах одного вида существенно различалась. Особенно это проявилось у изолятов *F. culmorum* и *F. heterosporum*, где наблюдали спектр признаков патогенности - от отсутствия влияния споровых суспензий на развитие проростков до значительного их угнетения. Фитотоксичность в отношении проростков сорта тестера варьировала в зависимости от вида микромицета. Наибольшую опасность для проростков-тестеров представляли виды *B.sorokiniana* (72%) и *F.oxysporum* (75%), способные к интенсивному накоплению токсинов в тканях растений за короткий промежуток времени.

Список литературы

1. Коломиец Т.М., Жемчужина Н.С., Панкратова Л.Ф., Александрова А.В., Киселева М.И., Елизарова С.А. Микромицеты Государственной коллекции фитопатогенных микроорганизмов, вызывающие микозы и микотоксикозы человека и животных. Успехи медицинской микологии. 2018; 19: 371-372
2. Thrane U., Adler A., Clasen P.E. Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae*, and *Fusarium sporotrichioides*. Int. J. Food Microbiology, 2004, 95: 257-266.
3. Дубовой В., Жемчужина Н., Елизарова С., Горелов П. Государственная коллекция фитопатогенных микроорганизмов ВНИИФ. Аналитика. - 2016. - № 1. - С. 76-78
4. Kolomiets T., Zhemchuzhina N. Genetic resources of the State Collection of Phytopathogenic Microorganisms of the All-Russian Research Institute of Phytopathology (ARRIP). Conference proceedings of XXXVII Annual Meeting of the European Culture Collection Organisation, Moscow, 13-15 September 2018, p. 45-46
5. Торопова Е.Ю., Казакова О.А., Воробьева И.Г., Селюк М.П. Фузариозные корневые гнили зерновых культур в Западной Сибири и Зауралье / Защита и карантин растений. №9. 2013.с.23-26.
6. 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.
7. Чулкина В.А. Корневые гнили хлебных злаков в Сибири. Новосибирск: Наука, 1985, 190 с.
8. Mesterhazy A. Role of deoxynivalenol in aggressiveness of *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum* in resistance to *Fusarium* head blight // European J. of Plant Pathology, 2002. Vol. 108. P. 675-684.
9. Wagacha J. M., Muthomi J. W. *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat // Crop Protection, 2007. Vol. 26. P. 877-885.
10. Дурьнина 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.
11. Wanyiru W.M. Kang Z.S, Buchenauer H. Importance of cell-wall degrading enzymes produced by *Fusarium graminearum* during infection of wheat heads // Eur.J.PlantPathol., 2002. Vol. 108(8). P. 803-810.
12. Pringle R.B. Role of toxins in etiology root disease of wheat // Canad. J. Bot., 1977. Vol. 55(13). P. 1801 - 1806.
13. Михайлина Н.И. Заселенность почв *Helminthosporium sativum* (Р.К. et B.) и развитие корневой гнили яровой пшеницы в различных видах севооборотов // Микология и фитопатология, 1982. Т. 18(5). С. 433-439.
14. Билай В.И. Микроорганизмы - возбудители болезней растений. Киев: Наук. Думка, 1988. 552 с.
15. Билай В. И. Фузариоз. Киев: Наук. думка, 1977. 442 с
16. Gerlach W., Nirenberg H The genus *Fusarium* - a pictorial atlas Berlin 1982 406 p
17. Kirk P. M., Cannon P. F., Minter D. W. & Stalpers J. A. Anamorphic fungi // Dictionary of the Fungi/ - 10th Edition. - 2008. - P. 28-31.
18. Watanabe T. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi. Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. Third Edition. CRC Press, 2010. 404 p.
19. Дудка и др. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наук. Думка, 1982. 552 с.

ЭНДОФИТНЫЕ ГРИБЫ ВИДА *FUSARIUM COMMUNE*, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ТРЮФЕЛЕЙЗвонарев А.Н.¹, Терентьев В.В.², Антипова Т.В.¹, Желифонова В.П.¹,Баскунов Б.П.¹, Качалкин А.В.^{1,3}, Вайнштейн М.Б.^{1,4}¹Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, ФИЦ ПНЦ БИ РАН, Пушкино²Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ФИЦ ПНЦ БИ РАН, Пушкино³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Известно, что плодовые тела трюфелей содержат внутри значительное количество различных, возможно симбиотических, бактерий и грибов, растущих совместно с хозяином [1] (Perlińska-Lenart et al., 2020). Многие исследователи полагают, что разнообразие и доминирование отдельных биохимических продуктов обусловлено не самим трюфелем, организмом-хозяином, а его симбиозом со спутниками [2-5].

В настоящей работе представлены результаты исследования мицелиальных грибов, изолированных из плодовых тел трех видов трюфелей *Tuber magnatum*, *T. melanosporum* и *Choiromyces venosus*. Идентификация изолятов по микро- и макроморфологическим признакам позволила отнести их к роду *Fusarium*. Их видовая принадлежность была определена молекулярно-генетическими методами, при идентификации были использованы данные генбанка NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) и база данных MycoID (<https://www.mycobank.org/>). Полученные нуклеотидные последовательности ITS регионов рДНК изолятов были идентичными и показали конспектичность со штаммами *Fusarium*, (сходство 99.5-100%), выделенными преимущественно в качестве корневых эндофитов из разных растений Америки и Азии. На основании результатов анализа нуклеотидной последовательности гена *TEF1a* изоляты были отнесены к виду *F. commune* Skovgaard, O'Donnell et Nirenberg. Сходство нуклеотидных последовательностей изолятов со штаммом *F. commune* NRRL 28387 (KU171720) составило 99.59%.

Все три изолята *F. commune* имели идентичный набор вторичных метаболитов, состоящий преимущественно из двух красно-бордовых пигментов. На основании методов УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии в их составе был идентифицирован нафтохиноновый пигмент фузарубин. Способность продуцировать нафтохиноны широко распространена среди грибов, особенно среди представителей рода *Fusarium*. Род *Fusarium* способен продуцировать три поликетидных пигмента: ауурофузарин, бикаверин и фузарубины (включая бострикоидин, яваницин). Для этих метаболитов известны антимикробная, противоопухолевая и фитотоксичная активности. Фузарубин демонстрировал потенциальную цитотоксичность против клеток лейкемии человека, проявлял активность против *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Bacillus megaterium*. Фитотоксичное действие нафтохинонов связывают с уменьшением уровня NAD(P)H в растительных клетках и образованием супероксид радикалов.

Известно, что большинство видов *Fusarium*, в том числе *F. commune*, оказывают фитопатогенное действие на растения. Выделенные изоляты *F. commune* были использованы для заражения стерильных проростков горчицы полевой (*Sinapis arvensis*). За 10 сут прямого визуального наблюдения и микроскопии корней растения наблюдалось обильное распространение гиф грибов в среде и корням. При этом агаризованная среда изменила свой цвет по сравнению с контролем за счет выделяемых грибами пигментов. Листья растений пожелтели.

Заражение изолятов *F. commune* проростков горчицы не привело к критическому повреждению реакционных центров ФС2. Максимальный квантовый выход флуоресценции Хл (Fv/Fm), отражающий максимальный потенциал ФС2 к фотохимическому разделению зарядов, не различался между контрольными растениями и растениями, зараженными тремя разными изолятами *F. commune*. В случае контрольных растений эффективный квантовый выход (Y(II)) был на $\approx 17\%$ ниже, в то время как для растений, зараженных тремя разными штаммами *F. commune*, снижение было более значительным и составило 39–43 % от максимального квантового выхода. В случае зараженных растений значение относительной скорости транспорта электронов (ETR) было ниже на 30–31% по сравнению с контрольными растениями. Таким образом, эксперименты по влиянию выделенных *Fusarium* на рост и фотосинтетическую активность проростков горчицы подтвердили умеренно фитопатогенные свойства изолятов. Возможно, что присутствие *F. commune* в микробиоме трюфелей способствует укреплению симбиоза трюфелей с корнями высших растений.

Совпадение изолятов из разных представителей трюфелей по их принадлежности к *F. commune* демонстрирует распространенность этого вида в микробиомах трюфелей в целом. При этом обнаруженные различия между выделенными штаммами могут свидетельствовать о некоторой дополнительной специфичности штаммов или подвидов *F. commune* к разным видам/родам трюфелей.

Список литературы

1. Perlińska-Lenart U., Piłsyk S., Gryz E. et al. Identification of bacteria and fungi inhabiting fruiting bodies of Burgundy truffle (*Tuber aestivum* Vittad.). Arch. Microbiol. 2020. 202: 2727–2738. . doi: 10.1007/s00203-020-02002-x
2. Martin F., Kohler A., Murat C., Balestrini R., Coutinho P.M., Jaillon O. et al. Périgord black truffle genome uncovers evolutionary origins and mechanisms of symbiosis. Nature. 2010. 464 (7291): 1033–1048. doi: 10.1038/nature08867
3. Antony-Babu S., Deveau A., Van Nostrand J.D., Zhou J., Le Tacon F., Robin C., Frey-Klett P., Uroz S. Black truffle-associated bacterial communities during the development and maturation of *Tuber melanosporum* ascocarps and putative functional roles. Environ Microbiol. 2014. 16 (9): 2831–2847. doi: 10.1111/1462-2920.12294
4. Splivallo R., Deveau A., Valdez N., Kirchhoff N., Frey-Klett P., Karlovsky P. Bacteria associated with truffle-fruiting bodies contribute to truffle aroma. Environ Microbiol. 2015. 17 (8): 2647–2660. doi: 10.1111/1462-2920.12521
5. Marozzi G., Benucci G.M.N., Turchetti B., Massaccesi L. et al. Fungal and bacterial diversity in the *Tuber magnatum* ecosystem and microbiome. Microb. Ecol. 2023. 85: 508–521. . doi: 10.1007/s00248-021-01950-1

Глава 8

Защита растений,
фунгициды и биопестициды

10.14427/cmr.2024.x.08

БИОФУНГИЦИДЫ ПРОТИВ ФУЗАРИОЗА ТОМАТА

Алексеева К.Л.

ВНИИ Овощеводства, Верей, Московская область

Фузариоз поражает растения томата в теплицах и в открытом грунте, при отсутствии комплексной системы защитных мероприятий приводит к значительным потерям урожая. Вредоносность фузариоза связана с низкой приживаемостью рассады, выпадами растений, снижением их продуктивности. Болезнь могут вызывать несколько видов р. *Fusarium*, дополняющих друг друга. Доминирует среди них *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Фузариоз имеет несколько форм развития, может вызывать корневые и стеблевые гнили, трахеомикозное увядание. Характерным признаком заболевания является поникание верхушки растения, потеря тургора листьями, их пожелтение, увядание, полное усыхание. У растений задерживается рост, снижается продуктивность, при этом болезнь может развиваться медленно (хроническая форма). При ослаблении растений и по мере их старения, болезнь протекает более интенсивно, и гибель растений наступает быстро (в течение 6-7 дней). В патогенезе важную роль играет фузариевая кислота – основной токсин возбудителя фузариоза, разрушающий сосудистую систему растений и нарушающий их физиологические функции. Инфекция сохраняется в почве на растительных остатках и может распространяться с поражённой рассадой, инструментами по уходу за растениями, а также воздушными потоками. Факторы, определяющие развитие фузариоза в теплицах – восприимчивый сорт/гибрид, высокий инфекционный фон, условия микроклимата в теплице (высокая температура и влажность воздуха). Факторы, усиливающие развитие болезни в открытом грунте – возделывание по паслёновому предшественнику, внесение повышенных доз азотных удобрений, высадка рассады в холодную почву и поливы холодной водой, уплотнение почвы и образование почвенной корки, снижающее поступление кислорода к корням, высокая концентрация солей в почве, повреждения на корнях или корневой шейке, через которые инфекция проникает в растения. В ризосфере поражённых растений томата часто присутствует возбудитель питиозной корневой гнили (*Pythium* sp.). Патоген является слабо конкурентным, по сравнению с другими почвенными патогенами. Способен первым поражать кончики корней и корневые волоски, что «открывает ворота для инфекции». Позднее вытесняется более агрессивными патогенами, в том числе фузариями. Накопление питиума в почве связано с несбалансированным использованием основных удобрений, особенно при недостатке фосфора. Наиболее подвержены заболеванию растения с ослабленной корневой системой.

Система защиты томата от фузариоза включает как профилактические мероприятия, так и обработки фунгицидами. Химические фунгициды имеют извест-

ные недостатки, поэтому важную роль в современных технологиях выращивания томата играют биофунгициды. Основные преимущества биофунгицидов по сравнению с химическими средствами защиты растений – безопасность для человека и окружающей среды, короткие сроки ожидания и возможность применения на протяжении всего периода вегетации, отсутствие рисков появления устойчивых рас патогенов, создание условий для естественной саморегуляции агроценозов. Многие биопрепараты обладают комплексным защитно-стимулирующим действием, способствуют усилению ростовых процессов и повышению продуктивности растений.

В задачу исследований входила сравнительная оценка эффективности биопестицидов, различающихся по составу действующих биоагентов, против фузариоза томата защищённого грунта. Работа проводилась в 2021-2023 гг. на базе ВНИИО-филиала ФГБНУ ФНЦО (Московская область) путем закладки опытов по стандартным методикам с использованием раннеспелого гибрида томата F₁ Вояж. Посев семян томата проводили в первой декаде апреля, высадку рассады в грунтовую плёночную теплицу осуществляли в начале июня. Грунт в теплице – дерново-перегнойная почва с кислотностью рН=6,7 с содержанием гумуса 4,1%, P₂O₅ – 35,9, K₂O – 27,1 мг на 100 г почвы.

Перед посадкой рассады почву фрезеровали, вносили необходимое количество минеральных удобрений АЗОФОСКА в дозе 4 г на одну лунку. Густота посадки 3,5 растения на 1 м². Растения формировали в 1 стебель, подвязывали на шпагате к шпалерам 2 м высотой. Уход за растениями после высадки на постоянное место включал поливы, прополки, подкормки, удаление нижних листьев.

Против фузариоза томата в опытах использовали биофунгициды

- Пралин, Ж (титр не менее 2,0x10⁹ КОЕ/см³ *Bacillus subtilis* В1018). Норма расхода препарата 5 л/га.

- Микозар СП (титр не менее 5x10¹⁰ КОЕ/г *Bacillus subtilis*, штамм В-10 ВИЗР + титр не менее 5x10¹⁰ КОЕ/г *Bacillus subtilis*, штамм М-22 ВИЗР + титр не менее 5x10⁹ КОЕ/г *Trichoderma harzianum*, штамм ВИЗР-18). Норма расхода препарата 300 г/га

- Бинал, Ж (титр не менее 10⁷ КОЕ/см³ *Bacillus subtilis* В 1018+ *Trichoderma viride* 10⁶ КОЕ/см³). Норма расхода препарата 5 л/га.

Биофунгициды вносили путем полива под корень 5-кратно. Первое внесение – через 5-7 дней после высадки рассады, последующие – с интервалом 15-20 дней. Норма расхода рабочей жидкости: 1000-2000 л/га. Контроль – без обработки.

Площадь учётной делянки 5 м², повторность опыта 4-х кратная, размещение вариантов рендомизированное.

Как показали проведенные учеты, профилактическая обработка растений томата после высадки рассады на всех вариантах опыта обеспечивала 100%-ную биологическую эффективность (БЭ) и полностью подавляла развитие патогена, по сравнению с контролем. На обработанных делянках первые симптомы фузариоза начинали появляться позднее, и распространение болезни было замедленным. В дальнейшем БЭ обработок биофунгицидами постепенно снижалась и после 5-ой обработки составила по вариантам опыта от 48,5 до 72,2 %. Лучшие результаты были получены на вариантах с применением смесевых препаратов на основе штаммов *Bacillus subtilis* и видов *Trichoderma*. Биологическая эффективность Микозара, СП к концу вегетации составляла 72,7%, БЭ Бинала,Ж - 68,4%. За счет снижения

распространённости болезни в посадках томата урожайность плодов на обработанных делянках на 18,5-21,2% превышала контроль.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой эффективности биофунгицидов на основе штаммов *Bacillus subtilis* и видов *Trichoderma* против фузариоза томата в теплицах, при этом следует учитывать особенности действия этих препаратов. Как правило, биофунгициды действуют медленнее и мягче химических аналогов, их применение требует многократных повторных обработок, которые проводят с определенной периодичностью. Биологическая эффективность в значительной степени зависит от условий окружающей среды (температуры, влажности). Наибольший эффект действия достигается в результате профилактических обработок или на ранних стадиях развития болезни в условиях низкого инфекционного фона.

ПОИСК, ПОЛУЧЕНИЕ И ФУНГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНО-ЗАМЕЩЕННЫХ МОНОСАХАРИДОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НА ИХ ОСНОВЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

Белахов В.В.¹, Бойкова И.В.², Краснобаева И.Л.², Антонова И.А.², Колодязная В.А.³

¹Технион – Израильский институт технологии, Хайфа

²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

³Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург

Широкое использование синтетических органических соединений в качестве пестицидов привело к значительному росту мирового производства продовольствия и сырья для промышленности. Однако со временем стали проявляться отрицательные последствия интенсивного применения химических средств защиты растений: 1) накопление в почве, водоемах, грунтовой воде; 2) возникновение устойчивых к ним популяций вредных организмов; 3) появление новых экономически значимых видов вредителей; 4) губительное действие на представителей полезной флоры и фауны; 5) потенциальная угроза здоровью человека [1-4]. Ввиду этого, в последние годы внимание исследователей привлекает разработка новых малотоксичных, высокоэффективных, полифункциональных и экологически безопасных пестицидов [5-8].

Пестициды, применяемые в сельском хозяйстве для защиты растений, относятся к различным классам химических соединений, однако углеводы, в частности моносахариды, полностью отсутствуют в ассортименте химических средств защиты растений [9, 10]. В связи с этим, нами синтезированы малотоксичные функционально-замещенные моносахариды на основе ксилозы и рибозы, содержащие арилзамещенные, тиофосфатные, фосфатные, фосфонатные, фтор-, сера- и кремнийорганические группы с целью изучения широкого спектра пестицидной активности: фунгицидной, инсектицидной, акарицидной, нематодической, антибактериальной и др. С другой стороны, представляло несомненный интерес изучить росторегулирующее действие потенциальных пестицидов, полученных на основе моносахаридов. Обнаружение фиторегуляторного действия наряду с различными видами пестицидной активности позволит получить многоцелевой положительный эффект от применения таких потенциальных пестицидов не только для защиты сельскохозяйственных растений

от заболеваний и вредных насекомых, но и для увеличения урожайности. Кроме того, моносахариды легко разлагаются в почве без образования токсичных продуктов, что обеспечивает экологическую безопасность окружающей среды.

Фармакологическими исследованиями было установлено, что полученные производные моносахаридов являются малотоксичными соединениями, причем их острая токсичность (LD₅₀) находилась в интервале от 910 до 1435 мг/кг (белые мыши, внутрибрюшинно).

В результате направленного скрининга нами синтезирован целый ряд арилзамещенных производных ксилозы, содержащих в ароматическом фрагменте, различные заместители, такие как галогены, нитро(динитро) группы, алкильные, метоксильные и силильные группы [11]. Биологические испытания показали, что полученные арилзамещенные производные ксилозы, содержащие две нитрогруппы или три атома хлора в фенильном кольце, обладают высокой фунгицидной активностью в концентрации 0.05-0.1 % против фитопатогенных грибов, вызывающих заболевания сельскохозяйственных растений: мучнистую росу огурцов (возбудитель заболевания *Erysiphe cichoriciarum*), фитофтороз томатов (возбудитель заболевания *Phytophthora infestans*) и серую гниль бобов (возбудитель заболевания *Botrytis fabae*). Обработка растений арилзамещенными производными ксилозы снижало развитие этих заболеваний растений на 72%-100%. Кроме того, арилзамещенные производные ксилозы, содержащие галогены или нитрогруппы в фенильном кольце, проявили очень высокую активность в концентрации 0.3 % в отношении тест-культур фитопатогенных грибов, причем подавление роста мицелия *Rhizoctonia solani* (возбудитель корневых гнилей и увядания растений) и *Venturia inaequalis* (возбудитель парши яблони) достигало от 83 % до 100 % при использовании этих соединений [11].

Большой интерес к фосфорорганическим пестицидам, и прежде всего к фосфорорганическим фунгицидам и инсектицидам, объясняется тем, что большинство этих соединений легко разлагается в почве с образованием фосфатов и других простейших соединений и практически не оставляет ядовитых остатков в окружающей среде [2, 7, 9, 10]. Нами синтезирован целый ряд фосфатных производных рибозы, у которых выявлена выраженная фунгицидная активность. Так, биологические исследования показали, что фосфорорганические производные рибозы проявили высокую активность в концентрации 0.1% против возбудителей альтернариоза *Alternaria alternata* и *Alternaria solani*, причем зоны отсутствия роста грибных фитопатогенов составляли 20.2-23.4 мм [12]. Важность полученных результатов заключается в том, что, грибы рода *Alternaria* известны как широко распространенные патогены для растений, выделяющие токсины, которые поражают семена сельскохозяйственных культур и отравляют растения [13-15]. Кроме того, известно, что гриб *Alternaria alternata* вызывает аллергические заболевания органов дыхания с круглогодичным течением, причем считается, что этот гриб как аллерген, наиболее сильно ассоциирован с бронхиальной астмой [15].

Нами выявлена высокая инсектицидная активность функционально-замещенных моносахаридов, прежде всего фосфатных производных рибозы, а также фтор-, сера- и кремнийорганических производных рибозы, в отношении вредных членистоногих, в частности в отношении виковой тли (*Medoura viciae* Buckt.). Так, после обработки 0.1 % водной суспензией фосфатных производных рибозы через 2 часа смертность виковой тли составила 85-100 % [12].

Дополнительные биологические тесты выявили стимулирующее действие фосфатных производных рибозы на рост и развитие овощных культур: огурца, кабачка и перца. Показано, что после обработки семян огурца этими соединениями их всхожесть увеличилась на 26-51 %, семян кабачка – на 23-49 %, семян перца – на 23-43 %. Применение арилзамещенных производных ксилитозы приводит к увеличению интенсивности роста культуры капустных клеток и удельной интенсивности их дыхания на 7-10 % [11].

Таким образом, полученные функционально-замещенные моносахариды, обладающие выраженной фунгицидной активностью, а также высокой инсектицидной активностью и фиторегуляторным действием, в сочетании с низкой токсичностью, можно рассматривать как перспективные полифункциональные соединения для создания на их основе эффективных экологически безопасных препаратов для защиты сельскохозяйственных растений.

Список литературы

1. Шкалик В.А. Защита растений от болезней. 3-е изд. М.: КолосС. 2010: 404 с.
2. Зинченко В.А. Химическая защита растений: средства, технология и экологическая безопасность. Москва: КолосС. 2012: 247 с.
3. Deepa T.V., Lakshmi G., Lakshmi P.S., Sreekanth S.K. Ecological Effects of Pesticides. In Book: Pesticides in the Modern World – Pesticides Use and Management. Stoytcheva M. (Ed.). Rijeka (Croatia): Publisher InTech. 2011; chapt. 15: 327-336.
4. Pohanish R. Sittig's handbook of pesticides and agricultural chemicals. Norwich (NY, USA): William Andrew Publishing. 2nd Ed. 2014: 1006 p.
5. Попов С.Я., Дорожкина Л.А., Калинин В.А. Основы химической защиты растений, М.: Арт-Лион. 2003: 148-159.
6. Lamberth C. Sulfur chemistry in crop protection. J. Sulfur Chem. 2004; 25 (1): 39-62.
7. Ганиев М.М., Недорезков В.Д. Химические средства защиты растений. 4-е изд. Санкт-Петербург: Лань, 2021: 331-341.
8. Pazenok S., Leroux F.R. Modern Fluorine-Containing Agrochemicals. In Book: Frontiers of Organofluorine Chemistry Ojima I. (Ed.). Singapore (Singapore): World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. 2020; Chapt. 16: 695-732.
9. Storm J.E. Organophosphorus pesticides. In Book: Patty's toxicology. Bingham E., Cohrssen B. (Eds.). Hoboken (NJ, USA): John Wiley & Sons, Inc. 2012; 4: 1077-1233.
10. The Pesticide Manual: A world compendium. Turner J.A. (Ed.). Hampshire (UK): British Crop Production Council. 18th Ed. 2018: 1408 p.
11. Belakhov V.V., Garabadzhiu A.V. The application of aryl substituted derivatives of xylose as environmentally friendly multipurpose pesticides. Russ. J. Gen. Chem. 2016; 86 (13): 3002-3007.
12. Boikova I.V., Antonova I.A., Kolodyaznaya V.A., Belakhov V.V. Results of a study of the biological activity of phosphate derivatives of β -D-ribofuranoside in the search for new highly effective environmentally friendly pesticides for plant protection. Russ. J. Gen. Chem. 2023; 93 (13): 3311-3320.
13. Lawrence D.P., Gannibal P.B., Peever T.L., Pryor B.M. The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. Mycologia. 2013; 105: 530-546.
14. Lee H.B., Patriarca A., Magan N. *Alternaria* in food: ecophysiology, mycotoxin production and toxicology. Mycobiology. 2015; 43 (2): 93-106.
15. Wang H., Yanjing Guo Y., Luo Z., Gao L., Li R., Zhang Y., Kalaji H.M., Qiang S., Chen S. Recent advances in *Alternaria* phytotoxins: a review of their occurrence, structure, bioactivity, and biosynthesis. J. Fungi (Basel). 2022; 8 (2): 168.

СКРИНИНГ ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ *PHLEBIOPSIS GIGANTEA* (FR.) JÜLICH., ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БОРЬБЫ С КОРНЕВОЙ ГУБКой

Демченко С.И.

Донецкий государственный университет, ДНР, Россия

В Донецкой Народной Республике также, как и в мировой практике, остро стоит проблема защиты леса от болезней и вредителей. Среди наиболее распространенных и опасных возбудителей болезней хвойных пород серьезного внимания заслуживает гриб *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref., или корневая губка, который вы-

зывает пеструю ямчато-волокистую (ситовую) гниль корневой системы сосны. В настоящее время большое внимание уделяется интегрированной защите хвойных насаждений от поражения *H. annosum*, предусматривающей рациональное сочетание лесокультурных и лесохозяйственных приемов с химическими и био-

логическими методами борьбы. В числе этих средств защиты одним из перспективных является экологически безвредный биологический метод, основанный на использовании антагонизма и конкуренции между организмами, а также биологически активных веществ, образуемых различными растениями и микроорганизмами в процессе жизнедеятельности [1]. Изучению антагонистических свойств грибов по отношению к *H. annosum* посвящено много работ [2, 3, 4]. Большинство исследователей для биологической борьбы с корневой губкой предлагают использовать сапротрофные дереворазрушающие грибы, которые не только ограничивают жизнедеятельность патогена, но и участвуют в процессах минерализации древесных остатков и почвообразовании. Широкое применение в мире получили биопрепараты на основе сапротрофного ксилотрофа *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) J lich. [5]. Биопрепараты создаются из местных штаммов гриба с высокой антагонистической активностью к корневым патогенам.

Целью наших исследований был скрининг штаммов *P. gigantea*, перспективных в качестве основы биопрепарата для защиты сосновых насаждений Донбасса от корневой губки.

В качестве объектов исследования использовали десять природных штаммов *P. gigantea* и семь патогенных изолятов *H. annosum*, выделенных в чистую мицелиальную культуру из плодовых тел, произрастающих в сосновых насаждениях Ямпольского лесничества ГП «Краснолиманский лесхоз».

В результате скрининга был выбран штамм *P. gigantea* P-1-96, активный в отношении патогенных изолятов *H. annosum*. Этот штамм в смешанной культуре с исследованными изолятами корневой губки начал проявлять ингибирующее действие на сусло-агаровой среде уже до встречи противокультур, снижая скорость роста мицелия изолятов *H. annosum* в 1,3-3,2 раза относительно контрольных вариантов. Однако зона лизиса между колониями гриба-антагониста и фитопатогена отсутствовала. После встречи колоний базидиомицетов во всех вариантах опыта *H. annosum* прекращал рост, в то время как *P. gigantea* нарастал на него, вызывая локальное разрушение гиф патогена. На 19-20-е сутки роста в смешанной культуре большая часть мицелия изолятов патогена покрывалась мицелиальной пленкой антагониста. При перенесении инокулюма *H. annosum* на свежую питательную среду рост гриба не возобновился, что свидетельствует о прекращении жизнедеятельности *H. annosum*.

На лесной подстилке также, как и на сусло-агаровой среде, отобранный штамм *P. gigantea* P-1-96 проявил фунгистатический алиментарный антагонизм и с разной скоростью нарастал на мицелий исследованных изолятов *H. annosum*. При этом антагонистические свойства *P. gigantea* при выращивании на лесной подстилке были выражены сильнее, чем на агаризованной питательной среде. Это, по-видимому, связано с тем, что корневая губка на лесной подстилке образует менее плотную мицелиальную пленку, на которую быстрее нарастает мицелий антагониста.

При исследовании антагонистической активности штамма *P. gigantea* P-1-96 на древесине сосны обыкновенной было обнаружено, что скорость колонизации древесного субстрата *in vitro* у гриба-антагониста была выше, чем у патогенных изолятов *H. annosum*. Исследованная культура гриба-антагониста проявила высокую агрессивность к возбудителю корневой гнили. На 60-е сутки с начала опыта она вытеснила патогенные изоля-

ты корневой губки из 100 % взятых для анализа образцов древесины.

Проведены исследования по оценке антифунгальной активности культуральной жидкости (КЖ), полученной при выращивании культуры гриба *P. gigantea* P-1-96 на глюкозо-пептонной среде. Установлено, что КЖ, содержащая продукты жизнедеятельности исследованного штамма гриба-антагониста, достоверно снижала накопление биомассы мицелия изолятов *H. annosum*. С увеличением концентрации экзометаболитов *P. gigantea* в питательной среде их антифунгальная активность усиливалась. Некоторые метаболиты, содержащиеся в КЖ штамма *P. gigantea* P-1-96, оказались термостабильными, так как кипяченые КЖ также угнетали рост изолятов *H. annosum*, но в меньшей мере по сравнению с некипяченными.

Экзометаболиты отобранного штамма *P. gigantea* P-1-96, в отличие от патогенных изолятов *H. annosum*, не оказывали фитотоксического влияния на прорастание семян и рост проростков *Pinus sylvestris* L.

Перспективный штамм-продуцент препарата помимо выраженных антагонистических свойств в отношении корневой губки характеризовался высокой скоростью роста на естественных и полусинтетических питательных средах и дереворазрушающей способностью.

В природных условиях *P. gigantea* в основном развивается на древесине хвойных пород, формируя поверхностную грибницу, которая может образовывать большое количество оидиоспор. Образование оидий, как показали исследования Н.И. Федорова [4], наиболее интенсивно происходит в воздушной среде. Поэтому, анализируя интенсивность спорообразования P-1-96 в поверхностной культуре, было установлено, что местный штамм гриба-антагониста был способен продуцировать оидиоспоры как на агаризованных питательных средах, так и на субстратах из растительных отходов агропромышленного комплекса. Интенсивность образования оидиоспор флебиопсиса гигантского достоверно зависела от состава питательных сред и возраста культуры гриба. Мицелий *P. gigantea* P-1-96 фрагментировался на оидии более интенсивно на растительных отходах, чем на агаровых средах. Наибольшая репродуктивная активность гриба обнаружена на субстратах из половы и подсолнечной лузги на 10-е сутки роста мицелия.

Таким образом, методом ступенчатого скрининга отобран штамм *P. gigantea* P-1-96, который характеризуется комплексом полезных свойств, определяющих его конкурентоспособность и перспективность использования для защиты сосновых насаждений Донбасса от фитопатогена *H. annosum*.

Исследование проводилось по теме государственного задания (№ госрегистрации 124012400346-5).

Список литературы

1. Лыков И. В., Максимчук П. А. Обзор современного состояния и эффективности мероприятий по защите сосновых насаждений от корневой губки (*Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref.) // Лесотехнический журнал. – 2021. – № 3. – С. 63–73.
2. Василюскас А. П. Корневая губка и устойчивость экосистем хвойных лесов. – Вильнюс: Моклас, 1989. – 175 с.
3. Негруцкий С. Ф. Корневая губка. 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1986. – 196 с.
4. Федоров Н. И. Корневые гнили хвойных пород. – М.: Лесная промышленность, 1984. – 160 с.
5. Holdriender O., Greig B. Biological methods of control // *Heterobasidion annosum*: Biology, Ecology, Impact and Control. – Oxon (UK) – New York (USA): CAB International, 1998. – P. 235–258.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЕТРИТНОЙ СУБСИДИИ КАК СПОСОБА УПРАВЛЕНИЯ МИКОБИОТОЙ ЧЕРНОЗЕМА В УСЛОВИЯХ ЗАРАЖЕНИЯ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ФУЗАРИОЗОМ

Иванова Е.А.¹, Ксенофонтова Н.А.¹, Тхакахова А.К.¹, Стахеев А.А.², Карпова Д.В.³, Гончаров А.А.⁴

¹ Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва

² Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

⁴ Институт проблем экологии и эволюции имени А. Н. Северцова РАН, Москва

Сельскохозяйственное производство непременно сталкивается с экологическими рисками, существенно снижающими качественно и количественно урожайность возделываемых культур. Одним из типов данных рисков является заражение растений комплексом патогенной почвенной биоты, большую долю которой составляют фитопатогенные грибы.

В качестве приемов управления почвенным микробиомом с целью повышения устойчивости агрофитоценозов может выступать добавление органических удобрений, в частности детритной субсидии, поскольку считается, что применение органических добавок стимулирует развитие сапротрофной микробиоты, приводя к увеличению антагонистической активности по отношению к патогенам и способствуя повышению уровня общей почвенной супрессивности.

В поисках стратегии контроля фитопатогенной нагрузки в Краснодарском крае (пос. Белозерный) на черноземе был заложен полевой эксперимент, целью которого была оценка влияния добавления детритной субсидии (смеси компоста и соломы) с разным соотношением С:N на естественное заражение фузариозом озимой пшеницы. Эксперимент заложен в апреле 2022 г на двух полях озимой пшеницы (сорт Гомер – восприимчивый к фузариозу), длительность оставляла 49 дней. В ходе эксперимента были исследованы 6 экспериментальных режимов: контроль и 5 вариантов смеси соломы и компоста (С:К) 18:0, 18:3, 18:6, 18:9, 18:12). Число 18 в названии типа мульчи (до двоеточия) относится к количеству соломы и отражает концентрацию 180 гС на кв. метр (гС – граммы углерода, содержащиеся в соломе). Числа от 0 до 12 (после двоеточия) отражают количество углерода (гС), содержащееся в компосте, входящем в состав мульчи. Мульча была добавлена в нулевой день эксперимента (6 апреля 2022). Отбор образцов был проведен непосредственно перед добавлением мульчи, а также на 16-ой день, и 49 день (фаза цветения). Во время каждого отбора на каждой площадке были проведены учеты биомассы и фитопатологический анализ пшеницы, массы оставшейся на поверхности почвы мульчи, отобраны образцы почвы и мульчи для изучения биомассы фузариевых грибов (методом ИФА). ДНК выделяли с использованием коммерческого набора реагентов HighPure Soil DNA Kit, MaGen (China). Биоинформационную обработку проводили с использованием программного пакета QIIME 1.9.1, статистическую обработку проводили в программе Statistica 10.0.

Обилие и биомасса общих (ПЦР-РВ) и фузариевых грибов (ИФА) во всех вариантах с добавлением мульчи были в целом выше, по сравнению с контрольным вариантом. Варианты с добавлением мульчи 18:3 и 18:9 характеризовались сравнительным повышением обилия общих грибов по сравнению с остальными. Статистических различий в значениях биомассы фузариев между вариантами с добавлением мульчи зафиксировано не было. Аннотация экологических особенностей выявленных грибов на уровне определяемых рода и вида

(76 % всех просеквенированных последовательностей) была проведена с использованием базы FungalTraits (<https://github.com/traitecoevo/fungaltraits>).

По данным метабаркодинга, из всех последовательностей на долю патогенной микробиоты приходится в среднем 20-21%, доля микопаразитов (являющихся потенциальными антагонистами фитопатогенных грибов) составляет в среднем 2.6%, доля сапротрофных и микоризных грибов в ходе эксперимента в среднем возрастает – с 35% до 47%, и с 0.1 до 3.4 %, соответственно.

В целом, в исследуемых образцах наблюдалось уменьшение доли патогенной (потенциально патогенной) микробиоты в ходе проводимого эксперимента, за исключением варианта с добавлением мульчи с соотношением солома:компост (С:К) 18:0, демонстрирующего на 49 день наблюдения увеличение обилия данной группы по сравнению с контрольным вариантом (на 6,5 %). В контрольных образцах количество патогенной микробиоты несколько снизилось на 7% к концу эксперимента (с 28,5 до 21,2%). В образцах с добавлением мульчи динамика, по-видимому, зависит от ее состава, т.е. от исходного содержания в ней соломы и компоста. Так, вариант с соотношением 18:6 демонстрировал тенденцию к наибольшему снижению обилия патогенных и потенциально патогенных ОТЕ по сравнению с контролем (на 3,4 %). Данный вариант, а также варианты с добавлением мульчи с соотношением С:К 18:0, 18:6 и 18:9 демонстрировали увеличение доли сапротрофного компонента (в том числе по сравнению с контрольным вариантом – на 5,5, 5,3 и 8,3%, соответственно). Вариант 18:12 в целом демонстрировал сходный тренд, однако относительная доля сапротрофной микробиоты на конец эксперимента была в целом ниже контрольного варианта.

Из фузариевых грибов, по данным метабаркодинга, в исследуемых образцах почвы доминировали *F. oxysporum*, *F. tricinctum*, *F. equiseti*, *F. hostae*. В варианте с добавлением мульчи 18:6 на конец эксперимента были зафиксированы сравнительно минимальные доли *F. oxysporum* (в среднем, 2.9%) и *F. tricinctum* (0.18%). Однако доля *F. equiseti* несколько превышала значение в контрольном варианте (0.78 против 0.34%), отмечено также присутствие в данном варианте последовательностей *F. hostae* (0.49%). В остальных вариантах мульчи в целом отмечено повышенное по сравнению с контролем содержание последовательностей выявленных групп фузариевых грибов.

По данным анализа физиологических параметров растений, в целом количество выявленных случаев и степень корневых поражений (% заболевших растений), увеличивались к концу наблюдаемого периода (к 49 дню). В то же время отмечалась тенденция к снижению этих негативных проявлений заболевания в вариантах с применением мульчи 18:6 – данное наблюдение было справедливо в сравнении как с контролем, так и в случаях с другими исследуемыми вариантами соотношения С:К. При этом, данный вариант характеризовался средним значением показателя количества корневой

и максимальным значением обилия наземной биомассы растений.

Таким образом, в ходе эксперимента было показано, что добавление мульчи к исследуемой почве способствует сдвигам в составе и структуре микобиоты, а также вызывает изменение обилия в микробном сообществе групп патогенных и сапротрофных грибов. При этом,

исходный состав мульчи также демонстрировал влияние на соотношение выявленных экологических групп микроорганизмов и, тем самым, оказывал косвенное влияние на физиологический статус озимой пшеницы.

Работа выполнена при поддержке фонда РФ (№ 22-76-10027).

ЭФФЕКТИВНАЯ ЗАЩИТА КАРТОФЕЛЯ ОТ АЛЬТЕРНАРИОЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФУНГИЦИДОВ

Кузнецова М.А., Демидова В.Н., Рогожин А.Н., Сметанина Т.И., Уколова А.Ю., Семенюк И.Н.
ВНИИ фитопатологии, Вяземы

В последние годы, в различных картофелеводческих регионах России, альтернариоз, возбудителями которого являются грибы рода *Alternaria*, вызывает существенные потери урожая [1,2]. Рассматриваемая болезнь ассоциируется с различными видами грибов рода *Alternaria* [2,3]. Вместе с тем, большинство исследователей полагают, что *A. solani* в большей мере обладает паразитарными свойствами и вызывает преждевременное отмирание растений картофеля [4,5].

Главными источниками ежегодного возобновления болезни являются споры, перезимовавшие на растительных остатках и в почве, а также пораженные семенные клубни. Характерными симптомами альтернариоза являются темно коричневые пятна округлой или неправильной формы с концентрическими кругами, напоминающими мишени [6].

Альтернариоз хорошо развивается при высокой температуре и продолжительных росах. При благоприятных условиях, споры патогена быстро распространяются по картофельному полю.

Вредоносность альтернариоза можно уменьшить с помощью интегрированной защиты картофеля, включающей использование здорового семенного материала, болезнеустойчивых сортов, правильного агротехнического ухода за растениями, а также современных химических средств защиты [4].

В России, как и других странах мира, в условиях сильного развития альтернариоза только химический метод может обеспечить надежную защиту растений от болезни. Для защиты восприимчивых к альтернариозу сортов картофеля требуются высокоэффективные фунгициды.

Целью исследования являлась оценка биологической эффективности нового фунгицида Миравис, КС, в сравнении с эталонными фунгицидами в условиях искусственного эпифитотийного инфекционного фона.

Методика проведения опыта

Исследования проводили в Московской области на экспериментальном поле ВНИИФ в 2020-2021 гг. Для этого использовали восприимчивый к альтернариозу сорт картофеля Удача. Искусственный инфекционный фон (уровень эпифитотии), создавали путем внесения на поле инокулюма – зерен ячменя, искусственно зараженных агрессивным изолятом *A. solani* [7].

Фоновые обработки растений от фитофтороза проводили фунгицидами (Инфинито, Ревус), не оказывающими влияние на грибы рода *Alternaria*. В качестве контроля использовали вариант, в котором растения обрабатывали только фунгицидами от фитофтороза.

Защитные обработки от альтернариоза включали применение таких фунгицидов как: Миравис, КС (0,35

л/га д.в. пидифлуметофен), Ревус Топ, КС (0,6 л/га, д.в. мандипропамид + дифеноконазол), Сигнум, ВДГ (0,3 кг/га, д.в. боскалид + пираклостробин) и Пеннкоцеб, СП (1,6 кг/га, д.в. манкоцеб).

Погодные условия в Московской области в 2020 и 2021 годы были благоприятными для развития альтернариоза.

Учеты пораженности растений картофеля альтернариозом проводили от даты проявления болезней до отмирания листьев через каждые 7-10 дней по шкале Британского микологического общества [8]. На основе учетов пораженности ботвы в поле оценивали степень развития болезни (AUDPC) и определяли биологическую эффективность защиты [9]. При уборке картофеля оценивали урожайность (ц/га) и % товарной фракции клубней. Полученный экспериментальный материал подвергался математической обработке методом статистического анализа при 95% уровне достоверности [10].

Дата посадки картофеля сорта Удача по годам: 5.05.2020 и 20.05.21; размер опытных делянок во все годы испытаний составлял 40 м², повторность - 4-х кратная. Размещение вариантов – рендомизированное.

В 2020 году, агротехнические мероприятия по уходу за опытными растениями включали: 25.10.2019 - зяблевая вспашка, 15.04.2020 – дискование; 19.04.2020 – глубокая культивация; 06.05.2020 – нарезание гряд; 03.06.2020 – окучивание с фрезерованием.

С осени в почву внесли 60 т/га органических удобрений и перед посадкой картофеля – минеральные удобрения в дозе 50 кг/га по д.в.

В 2021 году, проводили следующие агротехнические мероприятия: 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.

С осени в почву внесли 50 т/га органических удобрений и перед посадкой картофеля – минеральные удобрения в дозе 40 кг/га по д.в.

Обработки в период вегетации растений проводили с использованием ранцевого опрыскивателя - РНЩ-3. Расход рабочей жидкости из расчета 200 л/га.

Учеты альтернариоза на растениях картофеля: в 2020 году: 07.07, 14.07, 21.07, 28.07, 03.08, 11.08, 18.08, 28.08; в 2021 году: 07.07, 13.07, 20.07, 27.07, 03.08, 10.08, 20.08, 31.08.

Результаты

Создание искусственного инфекционного фона и выращивание восприимчивого к альтернариозу сорта картофеля Удача на экспериментальном поле способствовали активному развитию альтернариоза. В 2020

году, погодные условия в Московской области складывались для умеренного развития альтернариоза. В июне и июле наблюдались обильные осадки на фоне оптимальных температур для развития растений. В таких условиях в контроле альтернариоз появился во второй декаде июля. На дату последнего учета – 28.08 - пораженность растений альтернариозом в контроле не превышала 80%.

Табл. 1. Метеорологические данные периода вегетации 2020 г. (по данным метеостанции ВНИИФ, Московская область)

Основные показатели	Месяц/декада											
	Май			Июнь			Июль			Август		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Температура воздуха, °С											
Среднеголетняя	10,7	12,1	13,6	15,2	16,1	16,8	17,2	17,8	17,6	17,2	15,6	16,1
Среднее	12,3			16,0			17,4			16,3		
Текущего года	12,4	9,8	11,1	16,3	20,9	19,2	19,5	17,1	17,4	18,3	15,1	17,3
Среднее	11,1			18,8			18,0			16,9		
	Относительная влажность воздуха, %											
Среднеголетняя	66	68	69	70	73	73	65	72	65	63	78	76
Среднее	68			72			67			72		
Текущего года	68	58	76	78	65	62	76	81	73	71	76	75
	68			69			77			74		
	Осадки, мм											
Среднеголетняя	13,0	18,5	22,2	23,9	22,1	25,5	28,9	28,0	26,2	22,8	22,5	26,0
Сумма	S			S			S			S		
Текущего года	24,3	8,6	29,4	73,5	33,8	33,6	49,6	38,9	30,9	1,4	10,4	21,9
Сумма	S			S			S			S		

Табл. 2. Метеорологические данные периода вегетации 2021 г. (по данным метеостанции ВНИИФ, Московская область)

Основные показатели	Месяц/декада											
	Май			Июнь			Июль			Август		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Температура воздуха, °С											
Среднеголетняя	10,7	12,1	13,6	15,2	16,1	16,8	17,2	17,8	17,6	17,2	15,6	16,1
Среднее	12,3			16,0			17,4			16,3		
Текущего года	8,8	17,3	14,3	15,5	19,9	23,7	21,6	24,3	19,1	20,1	20,1	16,9
Среднее	13,5			19,7			21,6			18,9		
	Относительная влажность воздуха, %											
Среднеголетняя	66	68	69	70	73	73	65	72	65	63	78	76
Среднее	68			72			67			72		
Текущего года	64	60	65	68	67	68	65	66	67	76	74	74
	63			68			66			75		
	Осадки, мм											
Среднеголетняя	13,0	18,5	22,2	23,9	22,1	25,5	28,9	28,0	26,2	22,8	22,5	26,0
Сумма	S			S			S			S		
Текущего года	0	19,4	19,6	29,7	13,0	24,7	3,8	18,0	32,8	18,0	20,8	18,6
Сумма	S			67,4			S			S		

В 2021 году, в период вегетации растений погодные условия складывались наиболее благоприятно для развития альтернариоза. В июне и июле отмечались кратковременные осадки на фоне высоких температур. В таких условиях, первичное проявление болезни было отмечено в первой декаде июля. На дату последнего учета – 31.08 -пораженность растений альтернариозом в контроле составила 100%. Все исследуемые варианты защитных обработок продемонстрировали в той или иной степени подавление развития альтернариоза на растениях картофеля. На дату последнего учета, (28 и 30 августа) в оба сезона испытаний пораженность растений в варианте с препаратом Миравис составляла: 15% и 35%, в варианте с препаратом Ревус Топ - 30% и 43%, в варианте с препаратом Сигнум – 25% и 40%, в варианте с препаратом Пеннкоцеб –45% и 65%.

В варианте 1, где применяли Миравис, наблюдалось достоверное сдерживание развития альтернариоза, по сравнению с эталонными препаратами Ревус Топ, Сигнум и Пеннкоцеб. В варианте 4, где применяли Пенн-

коцеб, отмечали достоверное снижение вредоносности альтернариоза, по сравнению с контролем, однако схема была менее эффективна, по сравнению с препаратами Миравис, Ревус Топ и Сигнум.

В 2020 году, в зависимости от варианта, значения AUDPC варьировали от 196 до 810 (в контроле -1670, рис. 1). В 2021 году, в зависимости от варианта, значения AUDPC варьировали от 483 до 985 (в контроле – 2267, рис. 1).

В 2020 и 2021 гг., биологическая эффективность защиты составила: Миравис - 88% и 80%; Ревус Топ – 73% и 71%, Сигнум – 77% и 73%, Пеннкоцеб – 58% и 57%.

В среднем за два года, прибавка урожайности картофеля по вариантам составила: Миравис 132 ц/га, Ревус Топ 119 ц/га, Сигнум 123 ц/га, Пеннкоцеб 91 ц/га. Товарность клубней повышена на 21-16%. Следовательно, применение препарата Миравис позволило получить максимальную прибавку урожая - 132 ц/га и повышение товарности клубней на 21% (рис.2).

Таким образом, включение в программы защиты картофеля препарата Миравис, обладающего высокой эффективностью против *Alternaria solani* при различных погодных условиях позволило защитить посадки картофеля от альтернариоза и получить максимальную прибавку урожая и высокую товарность клубней. Эффективность препарата Миравис против *Alternaria solani* была показана в оба года испытаний в полевых условиях на искусственном инфекционном фоне.

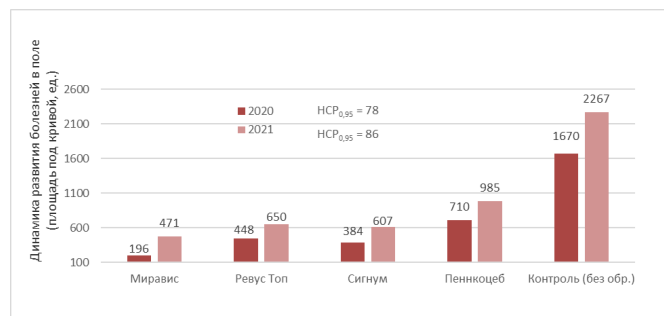


Рис. 1. Площади под кривыми, (AUDPC, ед.) описывающие развитие альтернариоза в сравниваемых вариантах опыта (сорт Ред Скарлетт, ВНИИФ, 2020-2021 гг.)

В 2020 и 2021 гг. Биологическая эффективность защиты составила: Миравис - 88% и 80%; Ревус Топ - 73% и 71%, Сигнум - 77% и 73%, Пеннкоцеб - 58% и 57%.

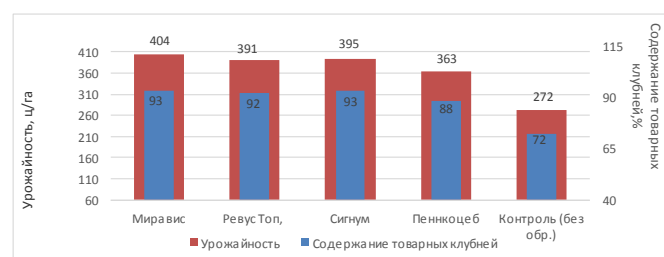


Рис. 2. Средняя урожайность картофеля ($HSP_{0.95} = 19$) и содержание товарных клубней в сравниваемых вариантах опыта (сорт Удача, ВНИИФ, 2020-2021 гг.) ($HSP_{0.95} = 3$).

СОЗДАНИЕ ФУНГИЦИДНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ НА ОСНОВЕ БАЦИЛЛЯРНЫХ ШТАММОВ ДЛЯ ОРГАНИЧЕСКОГО ЗЕМЛЕДЕЛИЯ

Кузнецова Н.И.

НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Современное ведение сельского хозяйства невозможно без применения удобрений и средств защиты растений. Защита растений от болезней, вызываемых фитопатогенными грибами, является важной экономической и социальной проблемой, так как потери продукции растениеводства составляют до 30% урожая. Из 160 заболеваний культурных растений 135 вызываются фитопатогенными грибами и микроорганизмами. Фитопатогенные грибы поражают растения на протяжении всего периода вегетации, во время хранения урожая и посевного материала. Гнили грибной этиологии являются основной причиной гибели растений. Болезни, вызываемые фитопатогенными грибами, снижают качество урожая. Заражая растения, грибы не только снижают урожайность, но и загрязняют их продуктами своей жизнедеятельности – микотоксинами, ухудшают потребительские качества пищевого сырья, его биологическую полноценность и безопасность для теплокровных организмов [1].

Список литературы

1. Анисимов Б.В., Белов Г.Л., Варицев Ю.А., Еланский С.Н., Иванюк В.Г., Г.К. Журомский, С.К. и др. / Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков – М.: Картофелевод, 2009. – 256 с.
2. Левкина Л.М. Род *Alternaria* Nees. /Новое в систематике и номенклатуре грибов. Под ред. Ю.Т. Дьякова и Ю.В. Сергеева. М., Национальная академия микологии; Микология для всех, 2003, с.276-303.
3. Ганнибал Ф.Б. Виды рода *Alternaria*, обнаруженные в России и на некоторых соседних территориях/ Микология и фитопатология. 2015. Т. 49, № 6. С. 374-385.
4. Кузнецова М.А., Козловский Б.Е., Рогожин А.Н., и др. / Фитофтороз и альтернариоз картофеля: программа защитных действий. Картофель и овощи. - 2010. - № 3. - С. 27-30.
5. Ганнибал Ф. Б. Видовой состав, таксономия и номенклатура возбудителей альтернариоза листьев картофеля / под ред. А.П. Дмитриева. Лаборатория микологии и фитопатологии им. А.А. Ячевского ВИЗР. История и современность. – СПб: ВИЗР. 2007. – С. 142-148.
6. Атлас болезней, вредителей, сорняков картофеля и мероприятий по борьбе с ними / В. Н. Зейрук, С. В. Жевора, С. В. Васильева [и др.]. – Москва: Федеральное государственное унитарное предприятие «Академический научно-издательский, производственно-полиграфический и книгораспространительский центр «Наука», 2020. – 322 с. – ISBN 978-5-901282-27-4. – EDN UPGQFG.
7. http://euroblight.net/fileadmin/euroblight/Alternaria/Protocols/Alternaria_solani_field_inoculation_kernels_2015.pdf
8. 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.
9. The quantitative relationship between late blight of potato and loss in tuber yield / James W.C., C.S. Shin, W.A. Hodgson [et al.]. . Phytopathology. – 1972. – No. 62. – P. 92-96.
10. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) - М.: Агропромиздат, 1985. - 351с.

В настоящее время микотоксины являются главными и наиболее опасными загрязнителями урожая всех сельскохозяйственных культур. По данным ООН более 80% мирового сбора урожая (до 3 млрд. тонн продукции растений), ежегодно производимой на планете, загрязнено микотоксинами, которые вызывают тяжелые отравления у человека и животных. Современные агротехнические и химические методы борьбы с грибными болезнями сельскохозяйственных растений всё ещё недостаточно эффективны. Применение химических пестицидов снижает и экономическую эффективность их использования, появляются устойчивые к действию пестицидов возбудители болезней растений, а стоимость разработки новых препаратов всё возрастает. Использование химических агрохимикатов нарушает биоразнообразие и экологическое равновесие, ухудшает плодородие почв и загрязняет окружающую среду.

Биологический метод защиты растений от патогенных микроорганизмов основан на использовании ми-

кроорганизмов-антагонистов, как наиболее прогрессивный. В этой связи поиск таких микроорганизмов, а также совершенствование знаний их биологии позволяет расширить границы применения биологического метода. В лаборатории биотехнологий защиты окружающей среды разрабатываются современные биологические методы защиты агрокультур от фитопатогенных грибов при использовании микробно-растительного взаимодействия. Биофунгициды, разрабатываемые на основе природных бациллярных штаммов, позволяют получать экологически чистые и безопасные для природы и здоровья людей сельскохозяйственные продукты.

Всё большее развитие в настоящее время приобретает применение биологических средств защиты растений (БСЗР). К преимуществам БСЗР следует отнести их безопасность для теплокровных организмов и окружающей среды, избирательность пестицидного действия, безопасность в процессе применения, отсутствие фитотоксичности и устойчивости к ним у растений при длительном применении.

Цели работы – расширить арсенал фунгицидных биологических препаратов на основе спорообразующих бациллярных штаммов, исследования биоцидной активности природных штаммов и биопрепаратов. Изучение биотехнологических свойств. Подбор состава препаративных форм. Определение норм расхода биофунгицидов при протравливании семян растений и посадочного материала плодовых растений, на вегетативной фазе роста растений, а также плодов для защиты от широкого спектра фитопатогенных грибов.

Задачи исследований состоят в разработке биофунгицидов на основе штаммов спорообразующих бацилл для защиты сельскохозяйственных растений и применения биопрепаратов в качестве фунгицидного средства для борьбы с фитопатогенными грибами и бактериями.

Материалы и методы

В работе использовали штаммы бактерий, фитопатогенных тест-грибов и бактерий из коллекции лаборатории.

Методы – экспериментальные исследования с использованием частных методик изучения фунгицидной, антибактериальной и др. активности штаммов и препаративных форм биопрепаратов.

Видовую идентификацию штаммов проводили методом секвенирования вариабельных участков генов, кодирующих 16S рРНК

Культурально-морфологические свойства штаммов изучали с помощью общепринятых микробиологических методов.

Динамику и уровень фунгицидной активности определяли по изменению линейной скорости роста тест-грибов, методом лунок и методом опрыскивания. Фунгицидную активность штаммов оценивали на фитопатогенных тест-грибах родов *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Phoma*, *Alternaria*, *Botrytis*.

Патогенность штаммов определяли методом фитотестирования [2]. Штаммы отнесены к IV классу опасности (самому низкому) и препараты, создаваемые на их основе, являются экологически безопасными биофунгицидами.

Подбор питательных сред проводили при культивировании в колбах Ерленмейера в шейкере-инкубаторе при 30°C и 250 об/мин в течение 72 часов, после чего определяли оптическую плотность и титр колониеобразующих единиц (КОЕ/мл).

В работе для культивирования использовали следующие среды: жидкую среду NBY, г/л: питательный бульон – 8 («Difco»), дрожжевой экстракт -3 («Difco»), для агаризованной среды добавляли агар-агар – 20 («Difco»). Жидкие среды: гидролизная среда, г/л: гидролизный дрожжи – 45; среда NBY, г/л: nutrient broth -8; yeast extract -3 («Difco»), среда LB, г/л: триптон -10 («Difco»), yeast extract - 5 («Difco»), NaCl – 5.

Тест-грибы культивировали на агаризованной среде Чапека или картофельно-сахарозной среде (PSA).

Эффективность фунгицидной активности рассчитывали по формуле $FE (\%) = 100 - FA$, где FE – фунгицидная эффективность; FA – фунгицидная активность, определяемая методом линейного роста гриба в %. Изучаемые штаммы обладают высокой фунгицидной эффективностью (более 70%) на всех видах проверенных фитопатогенных тест-грибов.

Отсутствие контаминаций, развитие штаммов бацилл в процессе культивирования и образование спор контролировали с помощью светового микроскопа Olympus.

Результаты исследований

В соответствии с Доктриной продовольственной безопасности РФ [3] разработаны специальные программы и стандарты по расширению экологически безопасных методов получения сельскохозяйственной продукции в практике производства и переработки продуктов растениеводства с использованием агентов биологической борьбы.

Задача поиска активных антагонистов фитопатогенных микроорганизмов и разработки на их основе препаратов для защиты растений от фитопатогенных болезней продолжает оставаться актуальной. Биологический метод защиты растений основан на использовании микроорганизмов-антагонистов. К наиболее перспективным продуцентам БСЗР относятся спорообразующие бактерии. Преимуществом бацилл является их безопасность для теплокровных организмов, относительная простота и дешевизна их культивирования, выделения целевых продуктов и применения. Ареалом распространения спорообразующих бактерий, в основном, является почва, что обеспечивает оптимальное развитие антагонистов при обработке семян растений и внесении их в почву для подавления возбудителей различных болезней с/х растений, а также в процессе вегетации и при хранении урожая. В качестве штаммов-продуцентов биологически активных соединений используются различные виды спорообразующих бактерий – *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. polymyxa*, *B. thuringiensis*, *B. pumilus*, *Brevibacillus laterosporus*.

Поиск наиболее активных штаммов-антагонистов является одной из актуальных задач биотехнологии. Бактерии рода *Bacillus* имеют наибольший потенциал в системах поиска новых биологически активных соединений с полифункциональным спектром антагонистической активности [4]. В лаборатории биотехнологий защиты окружающей среды создана коллекция штаммов спорообразующих бацилл (более 2 000), выделенных из природных источников.

На основе изучения культурально-морфологических, физиологических и биохимических свойств и проведении генетической идентификации штаммов по 16S рРНК, штаммы отнесены к *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *Brevibacillus laterosporus*. Все штаммы-продуценты депонированы в Биоресурсном центре

Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (БРЦ ВКПМ) НИЦ «Курчатовский институт».

Оптимальными по ряду биологических и технологических характеристик следует считать биологические фунгициды на основе спорообразующих бацилл.

Подобраны параметры ферментации штаммов, позволяющие получить оптимальную продуктивность бактерий: титр КОЕ/мл (до 10^9), спорообразование при световой микроскопии до 95%; а также, сохраняется стабильно высокий уровень антагонистической активности - антибактериальной и фунгицидной.

В качестве носителя для иммобилизации активного начала - культуральной жидкости штаммов бактерий, подбираются субстраты (различные формы перлита, диатомита, каолина).

Но, зарегистрированы всего 11 биофунгицидов в 2022 году в «Государственном каталоге пестицидов» [5]. Сдерживающим фактором развития рынка биопестицидов является необходимость поиска новых, более эффективных и активных штаммов, а также производство биопрепаратов в формах, которые обеспечивают простоту применения и отсутствие специфических требований к условиям хранения. Более перспективными в настоящий момент являются биофунгициды, активные против фитопатогенных заболеваний растений. В лаборатории на основе изучения уникальных штаммов-продуцентов создаются фунгицидные биопрепараты, которые способны расширить спектр БСЗР в России.

В лаборатории созданы биофунгициды для защиты зерновых растений [6] для защиты овощных растений от фитопатогенных грибов и бактерий [7] на основе штаммов *B. amyloliquefaciens*.

Разрабатывается конкурентно способный экологически безопасный фунгицидный биопрепарат для защиты плодовых культур, в том числе и виноградников, на основе активного природного штамма *B. amyloliquefaciens*, угнетающий развитие фитопатогенных микроорганизмов.

Высокий биоцидный эффект позволяет рекомендовать изученные штаммы в качестве продуцентов БСЗР от грибных и бактериальных болезней.

Выводы

Современные научные достижения - разрабатываемые фунгицидные биологические препараты позволяют расширить арсенал БСЗР для защиты агрокультур (зерновых, овощных, плодово-ягодных культур, в том числе и виноградников) от фитопатогенов (грибов и бактерий), что в свою очередь, послужит развитию экологически чистых биологических методов борьбы с фитопатогенными заболеваниями растений. Меры

биологической защиты растений помогут повысить урожайность сельскохозяйственных растений, снизят потери урожая в растениеводстве и позволят получать экологически чистые продукты питания, так называемую "green food" или "organic food" для получения экологически безопасных продуктов питания.

Социальная значимость проектов связана с расширением ассортимента фунгицидных биопрепаратов, возможностью обеспечения населения экологически чистыми продуктами, улучшением структуры почв, снижением риска заболеваний человека и животных, созданием новых рабочих мест. А внедрение в интегрированные системы защиты растений в рамках утверждённой Доктрины будет служить и продовольственной безопасности России.

Таким образом, существует научно-обоснованная необходимость обеспечения современного органического земледелия высокоэффективными фунгицидными биопрепаратами.

Препараты биофунгицидов, разработанные в лаборатории биотехнологий защиты окружающей среды, могут быть использованы для широкомасштабного производства биологических средств защиты сельскохозяйственных растений.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

Список литературы

1. Мюллер Э., Леффлер В. Перевод с нем. Москва. "Мир". 1995. С.141.
2. Санитарные правила СП 2.1.7.1386-03 «Определение класса опасности токсичных отходов производства и потребления». Москва, 2003.
3. Указ Президента Российской Федерации от 21.01.2020 № 20 «Об утверждении Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации»
4. Азизбеян Р.Р. Биологические препараты для защиты сельскохозяйственных растений. (Обзор). Биотехнология, 2018, т.34, № 5, 37-47.
5. «Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных для применения на территории РФ», 3 октября 2022, С.874-908
6. RU 2528058. Штамм бактерий *Bacillus amyloliquefaciens*, обладающий фунгицидным и бактерицидным действием, и биологический препарат на его основе для защиты зерновых растений от заболеваний, вызываемых фитопатогенными грибами
7. RU 2701500. Штамм спорообразующих бактерий *Bacillus amyloliquefaciens*, обладающий фунгицидным действием против фитопатогенных грибов, вызывающих заболевания овощных растений, биологический препарат на его основе

ВЛИЯНИЕ ПРОТРАВИТЕЛЕЙ НА ПОЛЕВУЮ ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН И ПОРАЖЕННОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОРНЕВОЙ ГНИЛЬЮ ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ

^{1,2} Массалимов И.А., ¹Мустафакулов Ш.С., ¹Ахметшин Б.С., ¹Хусаинов А.Н., ³Массалимов Б.И., ¹Самсонов М.Р.,

¹Уфимский университет науки и технологий

²Научно-исследовательский технологический университет гербицидов, Уфа

³Физический институт РАН, Москва

Одним из перспективных направлений создания экологически безопасных и в тоже время эффективных удобрений, средств защиты и стимуляции роста растений являются нанотехнологии. Отличительной характеристикой препаратов на основе нанотехнологий являет-

ся способность оказывать эффективное воздействие на растения в очень малых концентрациях [1,2]. Применение нанопрепаратов не заменяет применение традиционных азотных, калийных и фосфорных удобрений, но их использование позволит увеличить эффективность

их использования. А использование нанопрепаратов в качестве средств защиты растений от болезней и вредителей, а также для стимуляции роста растений во многих случаях может эффект намного превышающий действие традиционных препаратов. Так, применение нанопрепаратов, приводит к повышению устойчивости к неблагоприятным погодным условиям и увеличению урожайности практически всех производственных (картофель, зерновые, овощные, плодово-ягодные) и технических (лен, хлопок) культур [3,4].

В данной работе представлены результаты изучения антифунгальных свойств неорганических наночастиц серы по отношению к патогенным грибам и приводится сравнение их эффективности с традиционными препаратами.

Опыты осуществлялись на ячмене сорта Челябинская 99. Семена ячменя, естественно зараженные грибами, вызывающими корневые гнили, черный зародыш (*Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Alternaria* sp.), плесневение семян (*Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp.) и возбудителями бактериозов, дополнительно инфицировали бактериями *Pseudomonas syringae* (базальный бактериоз), *Xanthomonas translucens* (черный бактериоз) выращенных на МПА. В опыте с фунгицидами по вегетирующим растениям семена яровой пшеницы использовали без дополнительного заражения.

Протравители семян и фунгициды испытывали в виде текущих паст и водных растворов. В качестве эталона применяли известные препараты в рекомендуемых и зарегистрированных в списке дозах. Протравливание семян проводили в круглодонных колбах за 2-3 дня до посева, расход рабочей жидкости составлял 10л/т.

Агротехника обычная для данного региона. Посев осуществляли семенами элиты, в оптимальные сроки. Норма высева семян: ячмень – 5,4 млн шт 1 га

Размер делянок в опытах с протравителями семян 2 м², с фунгицидами против листостебельных болезней - 5 м². Повторность - четырехкратная, размещение делянок - рендомизированное. Наблюдения за развитием болезней производили по методикам и шкалам в соответствии с методическими указаниями [5]. Корневые гнили учитывали в фазы 3-х листьев - кущение и полной спелости перед уборкой по методике [6].

Опрыскивание посевов фунгицидами против листостебельных болезней проводили в фазу конец трубкования – начало колошения с помощью ручного опрыскивателя, норма расхода рабочей жидкости 250 л/га. Учеты степени развития бурой ржавчины, мучнистой росы и септориоза проводили в фазу молочной спелости. Пораженность листьев пшеницы бурой ржавчиной определяли по методическому пособию [7].

Для получения наночастиц серы был использован раствор полисульфида кальция [8] из которого постепенным добавлением 10% лимонной кислоты был получен порошок наночастиц серы по методу подробно описанному в [9]. Раствор полисульфида калия представляет собой водный раствор красного цвета (рис.1а), при разбавлении водой, как это происходит при протравливании семян или при опрыскивании растений с целью защиты их от патогенных организмов, происходит образование гидрозоля серы, непрозрачной дисперсии желтого цвета (рис.1б). При этом образуются наночастицы серы со средним размером 20 нм.



Рис. 1 Изображение раствора неразбавленного полисульфида кальция (а) и раствора после разбавления (б).

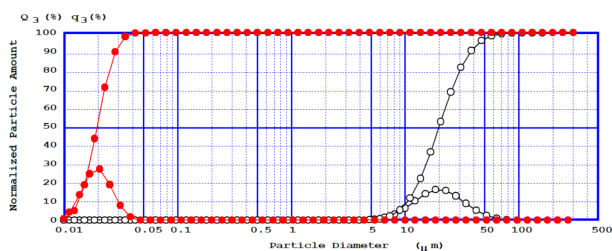


Рис. 2. Интегральное и дифференциальное распределение частиц серы в растворе в разные промежутки времени: (●) - в момент образования; (○) - через 1 час.

Для изучения процесса образования наночастиц серы и измерения их размеров в водной среде раствор полисульфида кальция развели водой 1% концентрации и вводили шприцом непосредственно в кювету анализатора объемом 28 мл. Измерения интегрального и дифференциального распределения частиц серы по размерам производили на лазерном анализаторе Shimadzu SALD-7101 в водной среде. Лазерный анализатор позволяет регистрировать изменения распределения частиц в диапазоне 10 нм до 300 мкм в режиме реального времени каждые 5 секунд и снабжен ультразвуковой приставкой, с помощью которой можно определять устойчивость частиц в различных жидких средах.

На рис.2 представлены распределения частиц в момент образования частиц и завершения процесса укрупнения при комнатной температуре 25°C, согласно этому графику формируются частицы в диапазоне от 10 нм до 40 нм, затем со временем они укрупняются и через 100 минут достигают размера 20 мкм в диапазоне от 5 мкм до 60 мкм и дальнейший рост прекращается. Далее если на эти крупные частицы размером 20 мкм воздействовать ультразвуком, то частицы распадаются на наночастицы размером 20 нм. Следовательно, укрупнение частиц серы происходит путем слипания первичных наночастиц размером 20 нм. Изображение наночастиц серы приводится на рис.3.

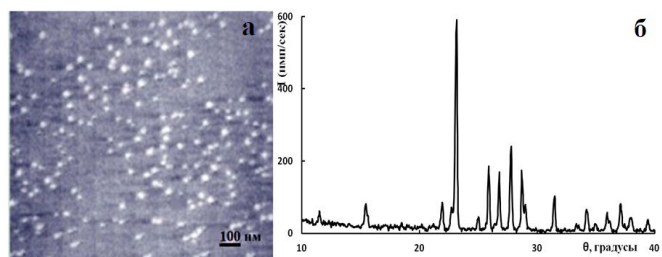


Рис. 3. Изображение наночастиц серы, полученное с помощью зондового микроскопа (а) и дифрактограмма наночастиц серы (б).

На рис.3 приведено изображение наночастиц серы, полученное с помощью зондового микроскопа (а) и дифрактограмма наночастиц серы, полученное на рентгеновском дифрактометре Rigaku Ultima IV. Видно, что частицы серы имеют размеры 20-30 нм и имеют орторомбическую структуру, которая характерна для массивных образцов серы.

Эффективность действия препарата определяется его действием на растение и сказывается в дальнейшем на разных стадиях роста. В данной работе наряду с водным раствором полисульфида кальция изучены следующие препараты: раксил, медный купорос (CuSO₄), катамин, роксацин.

В частности, в данном случае протравливания семян ячменя рассматриваются всхожесть семян пораженность растения на следующих стадиях: стадии кущения и полной спелости (см. Таблицу). Рассматривалось развитие ячменя на фоне традиционного применения удобрений азота, фосфора и калия. Обозначения в таблице: СП- смачивающийся порошок; ВР – водный раствор; П- порошок; КС – концентрат эмульсии. НСР05 - наименьшая существенная разница, 05 - 5% ошибки в опыте, или означает 95% достоверности в эксперименте.

Полевые испытания бактерицидных препаратов проводились на ячмене сорта Челябинская 99. Резуль-

таты действия препаратов на полевую всхожесть и развитие корневых гнилей представлены в таблице. Препараты с CuSO₄, СП (980 г/кг) и Катамин, П (500 г/л) несколько снижали полевую всхожесть семян, чем в контроле. Максимально положительное влияние на всхожесть оказал протравитель на основе полисульфида калия (ВР (300 г/л) – 5%, а препарат и Роксацин, ВР (200 г/л) – 1,5%. Развитие корневых гнилей в фазу кущения ячменя эффективнее подавляют препараты полисульфида калия, Роксацин и Катамин, П (500 г/л) – 65%, 65% и 52 %, соответственно. Учет болезней в фазу полной спелости ячменя показал, что развитие корневых гнилей сдерживали только препараты полисульфида калия, и Роксацин – на 17 и 12 %, соответственно. Действие двух других протравителей на пораженность корневыми гнилями перед уборкой ячменя не проявилось и показатели интенсивности болезни в этих вариантах были на уровне контроля.

Из данных приведенных в таблице следует, что препарат на основе полисульфида калия дает не только хорошую всхожесть, но и самую высокую эффективность по отношению к патогенным организмам на стадиях кущения и полной спелости.

Табл. 1. Влияние протравителей на полевую всхожесть семян и пораженность бактериальной корневой гнилью проростков ячменя сорта Челябинская 99

№	Варианты опыта	Норма расхода		Полевая всхожесть		Развитие бактериальной корневой гнили по фазам, %			
		по д.в. л/т,	по препа-рату л/т,			кущение		полная спелость	
				%	+/- к контролю	развитие болезни, %	биологическая эффективность, %	развитие болезни, %	биологическая эффективность, %
1	Контроль (Фон-Раксил, (60 г/л))	0,03	0,500	69,3	-	11,6	-	45,8	-
2	Фон + CuSO ₄ , (980 г/кг)	1,00	1,020	68,5	-0,8	6,4	45	46,0	-
3	Фон + полисульфид калия, (300 г/л)	0,60	2,000	74,3	+5,0	4,0	65	38,1	17
4	Фон + Катамин, (500 г/л)	0,05	0,100	68,0	-1,3	5,6	52	46,3	-
5	Фон + Роксацин, (200 г/л)	1,00	5,000	70,8	+1,5	4,1	65	40,4	12
НСР05		-	-	2,0		1,3		2,3	
Норма высева 540 семян на 1 м2									

Список литературы

1. Сергеев Г.Б. Нанохимия. Москва: МГУ, 2003. 588 с.;
2. Балабанов В. Нанотехнологии. Наука будущего. М.: Эксмо. 2009. 256 стр.
3. Федоренко В.Ф., Buklagin Д.С., Голубев И.Г. Использование нанотехнологий и наноматериалов в сельскохозяйственном секторе и вызовы от них информации развития. Нанотехнологии - производство. 2006, стр. 409-413;
4. Егоров Н.П., Шафранова О.Е, Егоров Д.Н., Сулейманов Е.В. Бюллетень Нижегородской университета. им. М.И. Лобачевского. 2008. №6. С. 94-99.
5. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта Издание пятое, переработанное, Москва Агропромиздат, 1985, с.3506.

6. Чулкина В.А. Корневые гнили хлебных злаков в Сибири В.А, Отв. ред. Р. Б. Кондратьев. - Новосибирск : Наука : Сиб. отделение, 1985. 189 с.
7. Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие. Под редакцией д-ра биол. наук Е.Е. Радченко Москва 2008, с.433
8. Массалимов И.А., Шайнурова А.Р., Хусаинов А.Н., Мустафин А.Г. Получение наночастиц серы из водного раствора полисульфида калия. Журнал прикладной химии, 2012, т.85, №11, С. 1944-1949.
9. Массалимов И.А., Мустафин А.Г., Шангареева А.Р., Хусаинов А.Н. Способ получения коллоидной наноразмерной серы. Патент РФ №2456231 от 20.07.12.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЗАЩИТНО-СТИМУЛИРУЮЩИХ СОСТАВОВ ДЛЯ ОБРАБОТКИ СЕМЯН ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ

Мусина К.М., Кожабаяева Г.Е., Копирова Г.И.

Казахский научно-исследовательский институт защиты и карантина растений им. Ж.Жиембаева, Алма-ата, Республика Казахстан

Семена – носители биологических и хозяйственных свойств растений, поэтому от их качества в большой степени зависит получаемый при их посеве урожай. Предпосевная обработка семян оказывает существенное влияние на урожайность сельскохозяйственных культур и, соответственно, на объёмы производства продовольствия. Без высококачественных семян конкурентоспособную сельскохозяйственную продукцию нельзя вырастить, даже если соблюдать все агротехнические приёмы. Залогом высокого урожая и товарного качества сельскохозяйственной продукции является научно-обоснованная предпосевная подготовка семян, которая включает подготовку семенного материала, компонентов семян и их эффективное взаимодействие в процессе обработки. Для предупреждения распространения заболеваний, передаваемых через семена, необходимо проводить их обязательную фитоэкспертизу.

Болезни растений приводят к потерям урожая зерновых культур до 20–30% и более. Среди патогенной микрофлоры зерновых культур семенная инфекция занимает особое место. Общеизвестно, что с семенами распространяется более 60% всех возбудителей болезней зерновых культур [1-5]. Исследования многих ученых показали, что подбор и обработка семян защитно-стимулирующими составами является наиболее экономичным и эффективным способом защиты семян от болезней, вредителей и улучшения качества семян [6]. Следовательно, подбор защитно-стимулирующего состава для предпосевной обработки семян яровой пшеницы и ячменя против комплекса грибной и бактериальной инфекции, стимулирующего посевные качества семян и корнеобразование с антистрессовой активностью, устойчивостью в период вегетации является актуальной задачей. Все вышеизложенное не подвергает сомнению важность и актуальность проведенных нами исследований. В этой связи целью наших исследований являлось изучение в лабораторных условиях эффективности разных препаратов против грибной и бактериальной инфекции с целью разработки защитно-стимулирующих составов для оздоровления семян яровой пшеницы и ячменя, стимулирования их посевных качеств и повышения устойчивости к заболеваниям.

Исследования проводились в лаборатории фитопатологии ТОО «КазНИИЗиКР им. Ж. Жиембаева». При проведении фитоэкспертизы семян зерновых культур оценивали их посевные качества согласно ГОСТам во влажных камерах (пшеница сорт Казахстанская 10 и ячмень сорта Вакула). В работе использовались общепринятые в фитопатологии и микологии методы исследования [7-9]. Для разработки защитно-стимулирующих составов был использован ряд препаратов предпосевной обработки в рекомендуемых дозах, включающий - бактериальные фунгициды: БисолбиСан, ж. (1 л/т), Фитолавин, в.р.к. (3 л/т), ТМТД, в.с.к. (4,0 л/т); инсектофунгициды: Юнта, к.с. (1,75 л/т),

Пилигрим, к.с. (0,3 л/т), Селест топ, 312,5 к.с. (1,0 и 1,8 л/т); биопрепараты: Агрофлорин, ж. (20 мл/т); Сид спор ж.ф. (20,0 мл/т), Экстрасол, ж.ф. (1,0 л/т); инсектициды: Табу, в.с.к. (0,4 л/т); фунгициды: Скарлет, м.э. (0,4 л/т); стимуляторы роста: Гумат калия, ж. (гуминовая кислота 1 л/т), Мивал агро, с.п. (20,0 г/т), Фомазин, ж. (3,0 л/т).

В результате определяли влияние разработанных защитно-стимулирующих составов для предпосевной обработки на микрофлору и на лабораторные показатели семян на питательной среде картофельно-глюкозного состава (КГА), приемлемого для роста грибной и бактериальной микрофлоры.

Полученные результаты проведенных лабораторных испытаний показали, что наилучший показатель лабораторной всхожести на яровой пшенице и ячмене был выявлен в варианте Скарлет, м.э. (0,4 л/т) + Табу, в.с.к. (0,4 л/т) + Гумат калия (гуминовая кислота), ж., (1,0 л/т) – 99,3% и 98,0%, соответственно. Достаточно хорошие показатели были в вариантах Seed Spor, ж.ф. (20,0 мл/т), Seed Spor, ж.ф. (20,0 мл/т) + Селест топ, 312,5 к.с. (1,0 л/т), Пилигрим, к.с. (0,3 л/т) + Агрофлорин, ж. (20 мл/т) + Фомазин, ж. (3,0 л/т): на яровой пшенице энергия прорастания составила 96,9; 94,6 и 96,3%, соответственно. Результаты опытов на питательной среде КГА в чашках Петри выявили наименьшее заражение семян пшеницы грибной микрофлорой в варианте - Скарлет, м.э. (0,4 л/т) + Табу, в.с.к. (0,4 л/т) + Гумат калия, ж. (1,0 л/т) – 3,3%; на семенах ячменя – БисолбиСан, ж. (1,0 л/т) + Юнта, к.с. (1,75 л/т) + Фомазин, ж. (3,0 л/т) – 15,3%, в контрольном варианте – 100,0%.

Необходимо отметить, что все составы положительно повлияли на интенсивное развитие и рост корневой системы яровой пшеницы.

Таким образом, проведенные нами исследования по подбору защитно-стимулирующих составов для оздоровления семян яровой пшеницы и ячменя выявили, что большинство из них положительно повлияли на посевные качества семян и интенсивность роста проростков, а также эффективно подавляли грибную и бактериальную микрофлору семян пшеницы и ячменя и стимулировали развитие мощной корневой системы.

Список литературы

1. Обзор фитосанитарного состояния посевов сельскохозяйственных культур в Российской Федерации в 2015 году и прогноз развития вредных объектов в 2016 году. – М., 2016. – С. 258-268.
2. Перцева Е.В., Васин В.Г., Бурлака Г.А. Влияние предпосевной обработки семян на продуктивность яровой пшеницы // ВЕСТНИК Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. Защита растений (сельскохозяйственные науки). – Ульяновск, 2019. – С. 78-86. DOI 10.18286/1816-4501-2019-3-78-86.
3. Разина А.А. Применение фунгицидов и регулятора роста растений для предпосевной обработки семян яровой пшеницы в Иркутской области / А.А. Разина, О.Г. Дятлова // Зерновое хозяйство России. – 2018. – № 3(57). – С. 67-71.

4. Васин В.Г., Васин А.В., Васина Н.В., Адамов А.А. Продуктивность полевых культур при применении регуляторов роста в зоне Среднего Заволжья // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. – Самара. - 2018. - № 3. – С. 3-8.
5. Абдуазимов А.М., Вафоева М.Б., Хазраткулова Ш.У. Влияние предпосевной обработки и внекорневой подкормки на первоначальные биометрические показатели озимой пшеницы // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – Мичуринск, 2021. - № 2 (65). – С. 13-17.

6. Tariq Shah, Amir Zaman Khan. The influence of pre-sowing treatments on Germination Properties and Seedling Vigor of Wheat // Research in: Agricultural & Vet. Sci. - Vol .1, No.1, 2017, P. 62-70.
7. ГОСТ 12044-93. «Семена сельскохозяйственных культур». – М., 1993. – С.145-156.
8. Билай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г. и др. Микроорганизмы – возбудители болезней растений. Справочник. – Киев: Наукова думка, 1988. – С. 550.
9. Наумова Н.А. Анализ семян на грибную и бактериальную инфекцию. - Л.: Колос, 1970. – С. 208.

АНТАГОНИСТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *BACILLUS VALLISMORTIS* ПРОТИВ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

Нармухаммедова М.К., Хусанов Т.С., Жумаёров Ш.И.,
Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, Ташкент

Введение. Болезни растений вызывают ежегодное уничтожение примерно 10–15 % основных сельскохозяйственных культур, что приводит к экономическим потерям в сотни миллиардов долларов. Подсчитано, что 70–80 % этих заболеваний вызываются фитопатогенными грибами. Эти грибы чрезвычайно губительны для растений и отрицательно влияют не только на рост и урожайность сельскохозяйственных культур, но и на качество и хранение продуктов питания [1].

Грибы, такие как *Penicillium*, *Aspergillus* и *Fusarium*, могут проникать и заражать многие основные сельскохозяйственные культуры и продуцировать ядовитые вторичные метаболиты — микотоксины. Сообщается, что более 500 микотоксинов потенциально вредны для человека и животных, в основном включая афлатоксины, охратоксины, трихотецены, дезоксиниваленол, фумонизины, зеараленон, патулин, цитринин. Грибковая инфекция может вызывать появление этих микотоксинов на любой стадии роста урожая, сбора урожая, хранения и транспортировки. Охратоксин А, в основном продуцируемый *A. ochraceus*, *A. Carbonarius* и *A. niger*, является наиболее широко известным микотоксином [2].

В частности, было изучено множество физических и химических методов снижения или устранения микотоксинов из пищевых продуктов и пищевых ингредиентов. Помимо традиционных физических методов, таких как термическая обработка, обработка давлением, адсорбенты типа активированного угля, диатомита также могут быть использованы для ингибирования всасывания микотоксинов в желудочно-кишечном тракте, но имеют недостаток – низкую эффективность или влияющие на качество продуктов питания [2].

Для противодействия потере плодов, вызванной грибковой инфекцией, обычно используются фунгициды из-за их высокой эффективности и низкой стоимости. Однако, с одной стороны, сообщалось, что некоторые фунгициды, используемые для борьбы с послеуборочными болезнями грибов, повышают устойчивость патогенов. С другой стороны, при постоянном применении на плодах эти фунгициды отрицательно влияют на других организмов. Например, флудиоксонил, широко используемый для лечения заболеваний фруктов после сбора урожая, нарушает работу печени, эндокринной и неврологической систем. В то же время в окружающей среде остатки фунгицидов присутствуют в воздухе, почве, воде, пищевых продуктах. Поэтому

из-за необходимости устойчивого сельского хозяйства и безопасности пищевых продуктов сокращение использования фунгицидов имеет важное значение [3].

Определение биологического контроля – это управление болезнями растений с помощью биологического процесса или продукта биологического процесса. Это означает, что альтернативный биологический подход к борьбе с послеуборочными заболеваниями фруктов включает использование антагонистов и их метаболитов [3]. Биологические методы могут контролировать рост грибов, продуцирующих микотоксины, за счет использования бактерий-антагонистов, что является эффективным способом контроля загрязнения микотоксинами в источнике [2]. Функция биоконтроля видов *Bacillus* включает в себя множество возможных механизмов, включая противогрибковые метаболиты, пищевую конкуренцию и индукцию системной устойчивости у растений-хозяев. При этом наиболее выражен биоконтрольный эффект противогрибковых метаболитов, особенно липопептидных метаболитов. Липопептиды представляют собой амфифильные соединения, состоящие из жирной кислоты, связанного с коротким циклическим олигопептидом. В зависимости от структуры липопептиды обычно подразделяют на четыре семейства, включая итурины, сурфактины, фенгицины и лоцилломицины. Однако разные виды *Bacillus* могут секретировать разные виды и концентрации липопептидов, что приводит к их различной способности проявлять противогрибковую активность [4].

Материалы и методы. В работе использован штамм *Bacillus vallismortis* изолированный в чистую культуру из засоленных почв Ферганской области, а также фитопатогенные грибы *Fusarium oxysporium*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticillioides*, *Penicillium chrysogenum*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Fusarium solani*, *Fusarium culmorum*, *Aspergillus orchaceus*, *Cladosporium* sp., которые хранятся в коллекции лаборатории Института микробиологии. В работе использовали луночно-диффузионный метод. В чашку Петри вносили 20 мл агаризованной среды. В центре делали лунку на 2/3 толщины слоя агара. После этого газом засеивали фитопатогенные грибы, а в лунку вносили культуральную жидкость. Каждый эксперимент проводили в трехкратной повторности. Инкубацию производили при 30°C в течение 3-7 дней, после чего проводили измерение зоны подавления роста фитопатогенных грибов и фотогра-

фирование чашек. Зоны ингибирования роста грибов измеряли в миллиметрах. Чем больше зона ингибирования роста гриба, тем выше фунгицидная активность культуры. Зоной ингибирования роста грибов считали зону полного подавления роста колоний [5].

Результаты и обсуждение. По результатам исследования *Bacillus vallismortis* проявил высокую антагонистическую активность против *Fusarium verticillioides*, *Fusarium solani*, *Aspergillus orchaceus*, *Alternaria alternata*, *Fusarium culmorum*, *Alternaria tenuissima*, с зоной ингибирования 35-60 мм (табл. 1, рис. 1).

Табл. 1. Зоны ингибирования(мм) роста фитопатогенных грибов под воздействием штамма *Bacillus vallismortis*

№	Фитопатогенные грибы	<i>Bacillus vallismortis</i> (мм)
1	<i>Fusarium verticillioides</i>	60
2	<i>Fusarium solani</i>	50
3	<i>Aspergillus orchaceus</i>	40
4	<i>Fusarium culmorum</i>	48
5	<i>Alternaria alternata</i>	45
6	<i>Alternaria tenuissima</i>	35
7	<i>Penicillium chrysogenum</i>	35
8	<i>Fusarium oxysporium</i>	20
9	<i>Aspergillus flavus</i>	14
10	<i>Cladosporium sp.</i>	-

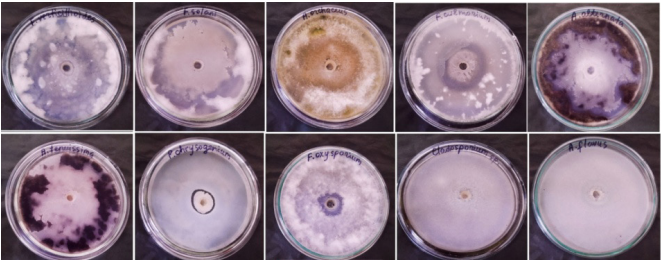


Рис. 1. Зоны ингибирования роста фитопатогенных грибов при воздействии *Bacillus vallismortis*

В то же время эти штаммы показали среднюю антагонистическую активность против *Fusarium oxysporium* (с зоной ингибирования 20 мм) и относительно меньшую антагонистическую активность против *Aspergillus flavus* (с зоной ингибирования 14 мм). Однако не проявлял антагонистическую активность против *Cladosporium sp.*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS* ПРОТИВ

ПАРШИ ЯБЛОНИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ГРИБНЫЕ СООБЩЕСТВА

ЧЕРНОЗЕМА ВЫЩЕЛОЧЕННОГО

Пинчук И.П.¹, Никитин Д.А.¹, Томашевич Н.С.², Гырнец Е.Ю.², Сидоров Н.М.², Тхакахова А.К.¹, Ксенофонтова Н.А.¹, Зверев А.О.^{1,3}, Семенов М.В.¹

¹ФИЦ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева», Москва

²Федеральный научный центр биологической защиты растений, Краснодар

³ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин

Грибные фитопатогены являются серьезной угрозой для продовольственной безопасности стран. Заболевания, вызываемые ими, могут приводить к потерям урожая до 40% (Rizzo et al., 2021). Наиболее распространенным методом борьбы является применение химических фунгицидов, которые хотя и эффективны в подавлении фитопатогенов, но при этом могут оказывать негативное влияние на качество урожая, здоровье человека, а также на численности и разнообразие полезных почвенных микроорганизмов (Fisher et al., 2018). Помимо этого, штаммы патогенов могут формировать резистентность к химическим пестицидам, что вынуждает аграриев применять все более высокие дозы препаратов (Hirooka, Ishii, 2013).

Заключение. Штамм *Bacillus vallismortis* выделенный из засоленных почв Ферганской области проявил антагонистическую активность против исследуемых фитопатогенных грибов *Fusarium oxysporium*, *Fusarium verticillioides*, *Penicillium chrysogenum*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Fusarium solani*, *Fusarium culmorum*, *Aspergillus orchaceus*, *Aspergillus flavus* кроме *Cladosporium sp.* Таким образом, в будущем, исследуемые штамм *Bacillus vallismortis* могут быть использованы для угнетения грибных заболеваний растений.

Список литературы

- Nowinski D, Czapka T, Maliszewska I. Effect of multiple nonthermal plasma treatments of filamentous fungi on cellular phenotypic changes and phytopathogenicity. International Journal of Food Microbiology. 2024; 408: 110428.
- Zhao Z, Liu D, Ruan L, et al. Antifungal mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens* SC-B15 and its application in cereal mildewproof and grape preservation. Food Bioscience 2023; 56: 103287.
- Ling L, Li Y, Jiang K, et al. Volatile organic compounds of *Bacillus* spp. as an emerging antifungal resource play a significant role in fruit postharvest disease control. Food Bioscience 2023; 56: 103201.
- Enhancing biological control of apple rot: Unveiling the antifungal potential and mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens* HZ-12's lipopeptide (2024) Scientia Horticulturae 325: 112704.
- Желтикова Т.М., Глушакова А.М. Оценка фунгицидной активности различных системныхантимикотиков, медицинский совет 2010; 14, с-32-37.

ют негативного воздействия на полезную почвенную микробиоту (Bloemberg, Lugtenberg, 2001).

Целью исследования было изучение эффективности биопрепаратов на основе бактерий рода *Bacillus* и оценка их влияния на сообщества грибов чернозёма выщелоченного в ризосфере яблони по сравнению с химическими средствами защиты растений. В задачи исследования входило: 1) оценить эффективность биопрепаратов против парши яблони (*Venturia inaequalis*) 2) оценить влияние биопрепаратов на численность и разнообразие культивируемых почвенных грибов; 3) определить численность копий генов бактерий и грибов с помощью количественной ПЦР; 4) определить таксономический состав и разнообразие грибных сообществ ризосферной почвы с помощью высокопроизводительного секвенирования.

Эксперимент был организован в яблоневом саду КФХ «Щербаков», Краснодарский край, Россия. Сорт яблок – «Женева Эрли», год посадки – 2013. Обработка листьев фунгицидами проводилась в 2021 и 2022 годах в весенне-летний период. Почва под деревьями – чернозем выщелоченный сверхмощный с содержанием гумуса 3.8 %; pH = 6.7. Были рассмотрены следующие системы защиты растений: Веленсис, Ж (*B. velezensis* 336g, 1x10⁹ КОЕ/мл), норма применения 3.0, 4.0 и 5.0 л/га; Фитоспорин-М, Ж (*B. subtilis* 26Д, 1 млрд КОЕ/мл), норма применения 2.0 л/га; последовательное применение химических фунгицидов (Химэталон): Зато, ВДГ (трифлуксистробин 500г/кг); Скор, КЭ (дифеноконазол 250 г/л). Контрольные деревья были обработаны водой. Образцы ризосферной почвы были отобраны в 2022 году, на второй год обработки. Для выявления культивируемых форм фитопатогенных грибов, а также грибов со свойствами биологических агентов проводили микробиологический посев на питательные среды с последующим микроскопированием с использованием материально-технической базы Уникальной научной установки (УНУ) «Технологическая линия для получения микробиологических средств защиты растений нового поколения» (<https://ckp-rf.ru/catalog/usu/671367/>). Численность копий генов архей, бактерий, грибов, а также грибов-фитопатогенов *Verticillium spp.*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium sp.* и оомицета *Pythium ultimum* определяли методом количественной ПЦР. Таксономический состав и разнообразие сообществ грибов определяли с помощью ДНК-метабаркодинга участка ITS2.

Было установлено, что в первый год обработки применение всех исследуемых препаратов повлияло на распространенность парши яблони. Биологическая эффективность в листьях не превышала 48.6% в варианте с применением биологических фунгицидов, 59.5% в варианте с Химэталоном, в плодах – 70.9% и 76.6% соответственно. В 2022 г. применение всех исследуемых препаратов существенно не повлияло на развитие и распространенность листовой формы, а на плодах, применение биологических пестицидов способствовало снижению развития и распространенности заболеваний в два-три раза. С питательных сред были выделены колонии следующих родов: *Fusarium spp.*, *Verticillium spp.*, *Cephalosporium spp.*, *Cladosporium spp.*, *Rhizopus spp.*, *Alternaria spp.*, *Trichoderma spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Mucor spp.*, *Trichothecium spp.* Наибольшее количество колоний *Fusarium sp.* наблюдалось в образцах ризосферной почвы под контролем и под химической системой защиты растений. Обработка яблонь средствами химической защиты растений приводила

к росту численности *Verticillium spp.*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum* и *Fusarium spp.* в два раза по сравнению с контролем. Результаты метабаркодинга соответствуют результатам, полученным другими методами. Во всех образцах преобладал *Fusarium* (до 40% в варианте с химическими фунгицидами), также было отмечено наличие фитопатогенов *Gibellulopsis*, *Plectosphaerella*, *Rhizoctonia* и др. *Venturia* присутствовал в количестве до 0.5% от общего сообщества грибов. Среди биологических агентов были обнаружены *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Coprinellus*, а также было выявлено высокое обилие копий генов *Clonostachys* (до 14% в варианте с химическими фунгицидами). Обработка химическими фунгицидами приводила к снижению индекса Шеннона для сообщества грибов ризосферы яблони по сравнению с контролем и образцами почвы под деревьями, обработанными препаратами Веленсис, Ж и Фитоспорин Ж.

Таким образом, обработка листьев яблонь химическими фунгицидами приводит к резкому снижению разнообразия грибов в прикорневой почве и повышению численности широкого спектра почвенных грибов-фитопатогенов, прежде всего *Fusarium*, *Rhizoctonia* и *Verticillium*. Поскольку общая численность грибов не снижалась, можно сделать вывод, что развитие фитопатогенов было вызвано освобождением тех экологических ниш, которые ранее были заняты грибами-сапротрофами и симбионтами растений. В результате длительное применение химических фунгицидов на яблоне может в дальнейшем привести к развитию корневых гнилей и других болезней растений, вызываемых почвенными фитопатогенами. В то же время применение биологических препаратов снижало заболеваемость растений, но при этом не сказывалось на разнообразии сообществ почвенных грибов. Следовательно, средства биологической защиты растений могут быть использованы в качестве альтернативы химическим фунгицидам, обеспечивая снижение пестицидной нагрузки на почвы агроэкосистем.

Количественная оценка пула микроорганизмов и биоинформатическая обработка данных секвенирования проведена при поддержке Российского научного фонда, проект № 21-76-10025 «Роль агробиотехнологий в регулировании разнообразия, функций и межмикробных связей почвенного микробиома» (<https://www.rscf.ru/project/21-76-10025/>). Изучение почвенного микробиома методами высокопроизводительного секвенирования и ПЦР в реальном времени выполнена молодежной лабораторией Почвенного углерода и микробной экологии в рамках госзадания Министерства науки и высшего образования РФ «Исследование микробных драйверов секвестрации и депонирования органического углерода в почвах агроэкосистем» (№ FGUR-2022-0018). Определение влияния биопрепаратов на развитие и распространенность парши яблони и изучение микроорганизмов культуральными методами выполнено согласно Государственному заданию Министерства науки и высшего образования РФ в рамках НИР по теме № FGRN-2022-0005.

Список литературы

1. Abd-El-Khair, H., Seif El-Nasr, H.I., 2012. Applications of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma spp.* for controlling the potato brown rot in field. Archives Of Phytopathology And Plant Protection 45, 1–15. DOI: 10.1080/03235400903145392
2. Bloemberg, G.V., Lugtenberg, B.J.J., 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria.

Current Opinion in Plant Biology 4, 343–350. DOI: 10.1016/S1369-5266(00)00183-7

3. Fisher, M.C., Hawkins, N.J., Sanglard, D., Gurr, S.J., 2018. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. *Science* 360, 739–742. DOI: 10.1126/science.aap7999

4. Hirooka, T., Ishii, H., 2013. Chemical control of plant diseases. *Journal of General Plant Pathology* 79, 390–401. DOI: 10.1007/s10327-013-0470-6

5. Jia, Y., Niu, H., Zhao, P., Li, X., Yan, F., Wang, C., Qiu, Z., 2023. Synergistic biocontrol of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*

against early blight disease in tomato. *Applied Microbiology and Biotechnology* 107, 6071–6083. DOI: 10.1007/s00253-023-12642-w

6. Rizzo, D.M., Lichtveld, M., Mazet, J.A.K., Togami, E., Miller, S.A., 2021. Plant health and its effects on food safety and security in a One Health framework: four case studies. *One Health Outlook* 3, 6. DOI: 10.1186/s42522-021-00038-7

7. Xue, L., Gu, M.-Y., Xu, W.-L., Lu, J.-J., Xue, Q.-H., 2016. Antagonistic *Streptomyces* enhances defense-related responses in cotton for biocontrol of wilt caused by phytotoxin of *Verticillium dahliae*. *Phytoparasitica* 44, 225–237. DOI: 10.1007/s12600-016-0517-2

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕПАРАТА БИОТРИХОДЕРМА, СП НА ЗЕМЛЯНИКЕ ПРИ ПОДАВЛЕНИИ СЕРОЙ ГНИЛИ

Приходько Е.С. Смирнов А.Н.
РГАУ – МСХА имени К. А. Тимирязева, Москва

Не все препараты применяются в защите земляники от болезней [1]. Это связано с тем, что у многих патогенов выработалась высокая устойчивость к фунгицидам, таким, например, является возбудитель серой гнили *Botrytis cinerea* Pers. Несвоевременное соблюдение агротехнических мероприятий, а именно, загущенность кустов, удаление пораженной листвы приводит к заражению здоровых растений. Опасность серой гнили в том, что она поражает землянику до и после уборки [2].

У земляники поражаются надземная часть и больше всего ягодовидные плоды многоорешки, которые нежелательно обрабатывать химическими препаратами. В последнее время в защите земляники от серой гнили стали прибегать к использованию биопрепаратов, которые могут поражать определенные виды возбудителей болезней, а также обеспечивают получение продукции, не содержащей остаточных количеств пестицидов, обеспечивают некоторую прибавку урожайности [3, 4].

Цель работы – изучить влияние биопрепарата Биотриходерма, СП на развитие серой гнили на землянике.

Материалы и методы. Для проведения мелкоделяночных опытов использовали сорт земляники Кимберли. Степень развития серой гнили и биологическую эффективность биопрепарата определяли согласно рекомендациям «Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве» [5]. Обработки растений проводили в рекомендованных производителем концентрациях, первая обработка – в фазу бутонизации, вторая – в фазу цветения. Эталонным препаратом являлся биофунгицид Фитоспорин М, Ж, обработки которым проводили следующим образом: первая – в фазу выдвижения цветоносов, вторая – начало цветения, третья – в фазу созревания ягодовидных плодов.

Результаты. Существенное воздействие на развитие серой гнили на землянике оказали климатические условия, сложившиеся в 2022 году – это обильное выпадение осадков и средняя температура воздуха в начальном периоде вегетации земляники, а в 2023 году наблюдалась другая тенденция, когда погодные условия в целом не способствовали развитию гриба *Botrytis cinerea* Pers. на

землянике, они отличались скудным выпадением осадков, засушливыми условиями и высокой температурой.

Появление серой гнили на землянике в 2022 г. наблюдалось в третьей декаде мая, а в 2023 г. – во второй декаде июля.

В 2022 году биологическая эффективность биопрепарата Биотриходерма, СП составила 68,3% по сравнению с эталонным препаратом Фитоспорин М, Ж, у которого биологическая эффективность составила 65% при развитии болезни в контрольном варианте 12,3%. В 2023 году биологическая эффективность биопрепарата Биотриходерма, СП составила 75,3%, а эталонного препарата Фитоспорин М, Ж – 72,9%, при развитии болезни в контроле 8,5%.

Прибавка урожайности в 2022 г., в варианте с обработкой препаратом Биотриходерма, СП составила 16,4%, в варианте с обработкой эталонным препаратом Фитоспорин М, Ж прибавка составила 14%. В 2023 г., в варианте с обработкой препаратом Биотриходерма, СП составила 19,1%, в варианте с обработкой эталонным препаратом Фитоспорин М, Ж прибавка составила 17,8%.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности применяемых препаратов против серой гнили на землянике и о влиянии климатических условий, влияющих на фитосанитарную ситуацию на делянках земляники. При применении биопрепарата Биотриходерма, СП наблюдалось снижение развития патогена серой гнили и снижение инфекционной нагрузки. Также при применении биопрепаратов решается экологическая проблема, получение продуктов питания для человека, свободных от пестицидных остатков и защита растений от болезней.

Список литературы:

- Захарова Н.Г., Сираева З.Ю., Демидова И.П., Егоров С.Ю. Создание биопрепаратов, перспективных для сельского хозяйства. Ученые записки Казанского государственного университета. Серия: Естественные науки. – 2006. – Т. 148, № 2. – С. 102–111. – EDN HZORGF.
- Орлова М.В., Карпунин М. Ю. Морфологические особенности земляники и влияние погодных условий Среднего Ура-

ла на урожайность. Молодежь и наука. – 2018. – № 7. – С. 50. – EDN SLCLBH.

3. Холод Н.А., Маслиенко Л.В. Биологизированный контроль серой гнили земляники садовой в условиях усиления абиотического и антропогенного воздействий. Науч. тр. СКФНЦСВВ. – 2018. – Т. 14. – С. 179-183.

4. Филиппов Е.С., Малахова С. Д. Влияние препарата «Агроверм» на урожайность сортов земляники садовой. Материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции с международным участием, посвящённой дню основания Российского государственного аграрного университета - Московской сельскохозяйственной академии имени К.А. Тимирязева, Калуга, 05–15 декабря 2022 года / Калужский филиал РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Том 1. – Калуга: ИП Якунина В.А., 2023. – С. 259-262. – EDN NFASTR.

5. Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве / Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, Российская академия сельскохозяйственных наук, государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений. – Санкт-Петербург: Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений РАСХН, 2009. – 379 с. – EDN WERHOZ.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И ФУНГИЦИДОВ НА РОСТ ГРИБОВ БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ *FUSARIUM OXYSPORUM* И *F. NIRENBERGIAE*

Трубин И.И.^{1,2}, Гаврилова О.П.¹, Орина А.С.¹, Гагкаева Т.Ю.¹
¹ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург
² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

Фузариозная сухая гниль картофеля (ФСГК), вызываемая грибами рода *Fusarium*, является широко распространенным и вредоносным заболеванием, которое приводит к потерям урожая в период хранения, а также снижению семенного качества клубней [1–3]. Среди возбудителей ФСГК, выделенных из клубней картофеля с симптомами заболевания из различных регионов РФ, были идентифицированы более 10 видов *Fusarium*, среди которых наиболее часто встречающимися и вредоносными считаются представители комплексов видов *F. sambucinum*, *F. oxysporum* и *F. solani* [2, 4–7]. Применение химических препаратов против возбудителей ФСГК является одним из обязательных технологических приёмов возделывания, однако чувствительность к фунгицидам среди разных видов *Fusarium*, а также среди штаммов одного вида, значительно варьирует [7, 8]. Определение точного видового состава грибов *Fusarium*, вызывающих ФСГК в регионах возделывания картофеля, является необходимой основой для обоснованного выбора эффективных стратегий защиты растений.

Целью исследования являлась сравнительная характеристика штаммов двух близкородственных видов *F. oxysporum* и *F. nirenbergiae*, относящихся к комплексу видов *Fusarium oxysporum* (FOSC), по чувствительности к температуре и фунгицидам.

Материалы и методы. Из коллекции микроорганизмов лаборатории микологии и фитопатологии ФГБНУ ВИЗР в качестве объектов исследования выбрали 11 штаммов грибов, выделенных из клубней картофеля с симптомами сухой гнили, и идентифицированных как *F. oxysporum* (4 шт.) и *F. nirenbergiae* (7 шт.) (табл.1). Видовая принадлежность штаммов была установлена в результате филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей фрагментов гена фактора элонгации трансляции EF-1a (*tef*) и гена большой субъединицы РНК полимеразы II типа (*rpb2*) (неопубл.).

Штаммы грибов выращивали на картофельно-сахарном агаре (КСА) 7 суток в темноте при 25 °С. Затем стерильным пробочным сверлом вырезали диски диаметром 5 мм из края колонии и помещали их мицелием вниз на поверхность КСА в центр пластиковой чашки Петри диаметром 85 мм. Культивировали штаммы в термостатируемых шкафах Innova 44R (Eppendorf, Гер-

мания) без освещения в диапазоне температур 5–35 °С с шагом 5 °С. На 5 сутки измеряли диаметр колоний грибов в двух взаимно перпендикулярных направлениях, вычитая размер инокуляционного диска. Скорость роста грибов определяли, как отношение расчетного диаметра колонии к числу суток культивирования (мм/сут).

Табл. 1. Штаммы грибов *Fusarium*, включенные в исследование

Вид	Номер штамма в коллекции	Происхождение	Год выделения
<i>F. oxysporum</i>	MFG 70125	Тулская обл.	2020
<i>F. oxysporum</i>	MFG 70127	Ставропольский край	2020
<i>F. oxysporum</i>	MFG 70128	Ставропольский край	2020
<i>F. oxysporum</i>	MFG 70145	Самарская обл.	2020
<i>F. nirenbergiae</i>	MFG 70132	Ярославская обл.	2020
<i>F. nirenbergiae</i>	MFG 70136	Ставропольский край	2020
<i>F. nirenbergiae</i>	MFG 70137	Ставропольский край	2020
<i>F. nirenbergiae</i>	MFG 70139	Ставропольский край	2020
<i>F. nirenbergiae</i>	MFG 70157	Башкортостан	2021
<i>F. nirenbergiae</i>	MFG 70159	Башкортостан	2021
<i>F. nirenbergiae</i>	MFG 70178	Ставропольский край	2021

Оценивали чувствительность штаммов к препаратам, содержащим разные действующие вещества (д.в): Бенорад, СП (беномил, 500 г/кг), Квадрис, СК (азоксистробин, 250 г/л), Максим, КС (флудиоксонил, 25 г/л) и Эместо Сильвер, КС (пенфлуфен, 100 г/л + протиоконазол, 18 г/л). Препараты разводили в стерильной воде и вносили в охлажденную до 55 °С КСА, на которой затем культивировали грибы согласно описанной методике [7]. Концентрации препаратов Квадрис, Максим и Эместо Сильвер в среде составили 1, 0.1, 0.01 и 0.001 % от концентрации рабочего раствора. Для препарата Бенорад были выбраны концентрации 0.001, 0.002, 0.0001 и 0.00001 % из-за установленной высокой чувствительности штаммов к этому д.в. Рассчитывали полумаксимальную эффективную концентрацию фунгицида,

приводящую к 50 % подавлению роста каждого штамма гриба (EC_{50}).

Все эксперименты проводили в двухкратной повторности, полученные данные анализировали с помощью статистических методов в программах Microsoft Excel 2010 и STATISTICA 12.

Влияние температуры на рост штаммов.

На 5 сутки культивирования при температуре 5 °C рост штаммов обоих видов не выявлен. В диапазоне температур 10–35 °C установлены различия в скорости роста для штаммов двух видов (рис. 1). В среднем, штаммы *F. oxysporum* оказались более быстрорастущими, по сравнению с штаммами *F. nirenbergiae*. Диапазон температур 25–30 °C оказался оптимальным для роста всех исследуемых грибов. При этих температурах скорость роста штаммов *F. oxysporum* составила 13.6 ± 0.2 — 13.2 ± 0.2 мм/сут, для штаммов *F. nirenbergiae* — 12.1 ± 1.0 и 10.8 ± 0.9 мм/сут. При повышении температуры до 35 °C отмечено достоверное значительное снижение скорости роста всех анализируемых штаммов, которая составила 2.1 ± 0.4 и 1.6 ± 0.1 мм/сут для штаммов *F. oxysporum* и *F. nirenbergiae*, соответственно.

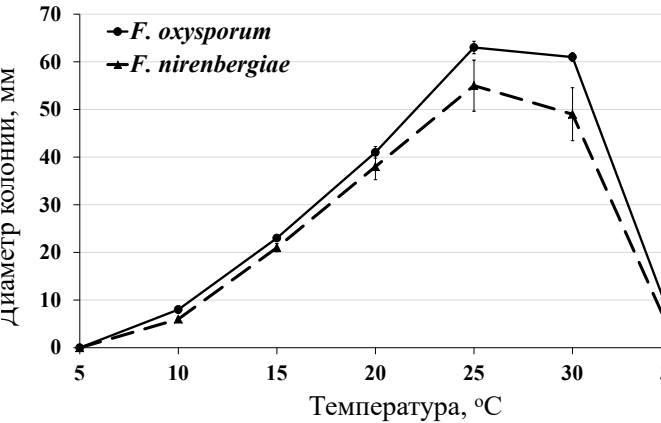


Рис. 1. Рост грибов *F. oxysporum* и *F. nirenbergiae* при различных температурах (КСА, 5 суток, в темноте)

Влияние фунгицидов на рост штаммов. В контроле диаметр колоний штаммов *F. nirenbergiae* на 6 сутки варьировал от 64 мм до 76 мм (в среднем 71 ± 1 мм), штаммов *F. oxysporum* — от 69 мм до 79 мм (в среднем 76 ± 2 мм). Добавление фунгицидов в КСА ограничивало рост всех исследуемых грибов с различной эффективностью (табл. 2).

Табл. 2. Влияние препаратов на рост грибов *Fusarium* при культивировании на КСА, содержащей фунгициды в различных концентрациях

Препарат	Вид <i>Fusarium</i>	Ингибирование роста колоний в среднем, % от контроля						
		1*	0.1	0.01	0.001	0.0002	0.0001	0.00001
Бенорад	<i>F. oxysporum</i>	н.а.**	н.а.	н.а.	97±2	29±2	4±1	1±1
	<i>F. nirenbergiae</i>	н.а.	н.а.	н.а.	100	28±3	-1±1	-4±2
Квадрис	<i>F. oxysporum</i>	53±2	50±1	41±1	28±1	н.а.	н.а.	н.а.
	<i>F. nirenbergiae</i>	58±3	55±2	48±1	28±1	н.а.	н.а.	н.а.
Максим	<i>F. oxysporum</i>	29±5	25±6	47±8	15±6	н.а.	н.а.	н.а.
	<i>F. nirenbergiae</i>	51±8	58±9	64±3	13±3	н.а.	н.а.	н.а.
Эместо Сильвер	<i>F. oxysporum</i>	92±4	58±3	32±4	14±6	н.а.	н.а.	н.а.
	<i>F. nirenbergiae</i>	95±1	67±2	27±5	11±5	н.а.	н.а.	н.а.

* приведены концентрации препарата в среде, % от рабочего раствора; **н.а. — не анализировали.

Присутствие беномила в питательной среде приводило к наиболее эффективному ингибированию роста штаммов, по сравнению с другими д.в. При концен-

трации в среде 0.001 % установлено почти полное подавление роста штаммов *F. oxysporum* и *F. nirenbergiae* 97 ± 2 % и 100 %, соответственно. Только один штамм *F. oxysporum* MFG 70125 был способен расти при этой концентрации беномила. Концентрация Бенорада 0.00001 % не влияла на рост штаммов *F. oxysporum*, а также стимулировали рост штаммов *F. nirenbergiae* — диаметр их колоний в среднем увеличивался на 1–4 %, по сравнению с контролем.

При добавлении в среду препаратов Квадрис и Эместо Сильвер отмечено линейное сходное снижение роста грибов обоих видов с увеличением концентрации фунгицида в среде. По сравнению с этими двумя препаратами, Максим, содержащий в своём составе флудиоксонил, оказался наименее эффективным для подавления роста анализируемых грибов, особенно в отношении штаммов *F. oxysporum*.

Рассчитанные значения EC_{50} также выявили как межвидовые, так и внутривидовые различия штаммов *Fusarium* spp. по чувствительности к препаратам (табл. 3). Исключение составил препарат Бенорад, содержащий беномил, значения EC_{50} которого для всех исследуемых грибов были сходными.

Табл. 3. Значения EC_{50} препаратов (% от концентрации рабочего раствора), рассчитанные для штаммов *Fusarium* при культивировании на КСА

Штаммы <i>Fusarium</i>	Бенорад	Квадрис	Максим	Эместо Сильвер
<i>F. oxysporum</i> MFG 70125	0.0003	>1	>1	0.032
<i>F. oxysporum</i> MFG 70127	0.0003	0.32	>1	0.087
<i>F. oxysporum</i> MFG 70128	0.0003	0.073	>1	0.024
<i>F. oxysporum</i> MFG 70145	0.0003	0.092	>1	0.065
В среднем для <i>F. oxysporum</i>	0.0003	0.16*	>1	0.052
<i>F. nirenbergiae</i> MFG 70132	0.0003	0.0074	0.0058	0.037
<i>F. nirenbergiae</i> MFG 70136	0.0003	0.010	0.0048	0.052
<i>F. nirenbergiae</i> MFG 70137	0.0003	0.015	0.0053	0.053
<i>F. nirenbergiae</i> MFG 70139	0.0002	0.082	0.0027	0.0057
<i>F. nirenbergiae</i> MFG 70157	0.0004	0.010	>1	0.029
<i>F. nirenbergiae</i> MFG 70159	0.0002	0.012	0.0083	0.042
<i>F. nirenbergiae</i> MFG 70178	0.0004	>1	>1	0.059
В среднем для <i>F. nirenbergiae</i>	0.0003	0.023*	0.0061*	0.040

*без учёта резистентных штаммов

К препарату Квадрис, содержащему азоксистробин, штаммы *F. oxysporum* оказались в среднем в 7 раз менее чувствительны, чем штаммы *F. nirenbergiae*. Также у двух штаммов *Fusarium* выявлена резистентность этому препарату (EC_{50} превышала 1 % от концентрации рабочего раствора). Все штаммы *F. oxysporum* и два штамма *F. nirenbergiae* оказались резистентными к препарату Максим, содержащего флудиоксонил. Причем у штаммов *F. oxysporum* MFG 70125 из Тульской области и *F. nirenbergiae* MFG 70178 из Ставропольского края отмечена перекрёстная резистентность к этим д.в. Не выявлены достоверные различия между *F. oxysporum* и *F. nirenbergiae* по чувствительности к препарату Эместо Сильвер, однако штамм *F. nirenbergiae* MFG 70139 характеризовался более высокой чувствительностью к этому препарату — для него EC_{50} была в 7 раз ниже, чем в среднем для всех штаммов этого вида.

Среди анализируемых штаммов *Fusarium* из комплекса видов FO SC, два штамма (18 %) продемонстрировали резистентность к азоксистробину, и 6 штаммов (55 %) – к флудиоксонилу, что прогнозирует риск

снижения эффективности широко применяемых фунгицидов. Поэтому необходимо научно-обоснованное использование химических препаратов для защиты картофеля от возбудителей ФСГК, в зависимости от видового состава патогенов в конкретном регионе и их чувствительности к д.в.

Исследование выполнено при поддержке РНФ (№ проекта 23-26-00105).

Список литературы

1. Wharton P., Hammerschmidt R., Kirk W. *Fusarium dry rot*. Michigan Agricultural Experiment Station Bulletin, 2007, art. e2992.
2. Du M., Ren X., Sun Q. et al. Characterization of *Fusarium* spp. causing potato dry rot in China and susceptibility evaluation of Chinese potato germplasm to the pathogen. *Potato Res.* 2012. 55: 175–184. DOI: 10.1007/s11540-012-9217-6
3. Анисимов Б.В., Зебрин С.Н., Зейрук В.Н. Сухие и мокрые гнили клубней и их контроль в семеноводстве картофеля. *Защита и карантин растений*, 2017. 5: 30–35.

4. Хадиева Г.Ф., Лутфуллин М.Т., Акосах Й.А. и др. Анализ микромицетов рода *Fusarium*, изолированных из инфицированных клубней картофеля, выращенных в Республике Татарстан. *Достижения науки и техники АПК*, 2018. 32 (3): 34–39.

5. Белосохов А.Ф., Ярмеева М.М., Долгов А.М. и др. Грибы рода *Fusarium* на клубнях картофеля. *Современная микология в России*, 2022. 9: 250–252.

6. Гагкаева Т.Ю., Орина А.С., Трубин И.И., Гаврилова О.П., Хютти А.В. *Fusarium sambucinum* – возбудитель сухой гнили клубней картофеля. *Вестник защиты растений*, 2023. 106(3): 137–145. DOI: 10.31993/2308-6459-2023-106-3-16041

7. Трубин И.И., Орина А.С., Гаврилова О.П., Гагкаева Т.Ю. Патогенность и чувствительность к флудиоксонилю грибов рода *Fusarium* – возбудителей сухой гнили клубней картофеля. *Защита и карантин растений*, 2024. 2: 19–22. DOI: 10.47528/1026-8634_2024_2_19

8. Gachango E., Hanson L.E., Rojas A., Hao J.J., Kirk W.W. *Fusarium* spp. causing dry rot of seed potato tubers in Michigan and their sensitivity to fungicides. *Plant Dis.* 2012. 96(12): 1767–1774. DOI: 10.1094/PDIS-11-11-0932-RE.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS* И *BACILLUS* КАК АНТАГОНИСТОВ НЕКОТОРЫХ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ ПАСЛЕНА ТЕМНОПЛОДНОГО

Вальчик К.А., Федюшко И.А.

Белорусский государственный университет, Минск

Паслён тёмноплодный, или баклажан (*Solanum melongena* L.) – представитель семейства Solanaceae, плоды которого являются источником углеводов, витаминов, клетчатки и полифенолов, оказывающие положительный эффект на сердечно-сосудистую систему человека, а также препятствующие развитию ряда тяжёлых заболеваний [1].

Фитопатогенные грибы, такие как *Alternaria* и *Botrytis*, наносят значительный вред при выращивании баклажанов. Они являются возбудителями альтернариоза и серой гнили плодов. Чтобы предотвратить проблему заражения нужно выбирать правильные меры защиты и лечения растений. Для этих целей могут подойти бактерии рода *Pseudomonas* и *Bacillus*, которые обладают антифунгальной активностью [2, 3].

Псевдомонады способны продуцировать множество веществ: аминокликозиды, псевдомоновые кислоты, которые эффективны в отношении возбудителей заболеваний растений. Их часто используют для сельскохозяйственных нужд, как средства для борьбы с возбудителями заболеваний растений бактериальной и грибной этиологии, а также в качестве стимуляторов роста растений. Виды рода *Bacillus*, в свою очередь синтезируют антибиотики, пептиды, ферменты, непептидные соединения, а также антифунгальные метаболиты, способствующие ингибированию роста фитопатогенных микромицетов [2, 3].

Данные свойства позволяют использовать эти бактерии для создания биопрепаратов комплексного действия, которые могут не только подавлять рост грибов, но и способствовать росту сельскохозяйственных культур. Примерами таких препаратов являются ауриин (на основе *Ps. aurantiaca* B-162/498), бактоген (на основе *B. subtilis* 494), планриз (на основе *Ps. fluorescens* AP-33) [4, 5, 6].

Цель работы – сравнение антифунгальной активности 6-ти штаммов бактерий (pp. *Pseudomonas* и *Bacillus*)

по отношению к фитопатогенным микромицетам *Alternaria* sp. и *Botrytis cinerea*.

Микромицеты выделяли самостоятельно из пораженных плодов баклажана. Материал был собран в августе 2023 года в РБ, Минской области, Несвижском районе, д. Саска Липка.

В качестве питательной среды для *Alternaria* sp. использовали картофельно-морковный агар (КМА). Для *Botrytis cinerea* – картофельно-глюкозный агар (КГА). Культивировали при 23 ± 2 °C [7].

В качестве штаммов-антагонистов были отобраны бактерии из активной коллекции кафедры микробиологии БГУ: *Ps. putida*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. cereus*.

Для определения степени угнетения вегетативного роста мицелия была использована методика отсроченного антагонизма. Культуры бактерий высевали кольцом ($d=4$ см) на заранее подсушенную питательную среду, культивировали при 28 ± 2 °C (для *Pseudomonas*) и 37 ± 2 °C (для *Bacillus*) в течение суток. По истечении 24 ч. в центр сформировавшегося бактериального кольца вносили микромицет. Параллельно засеивали контрольные чашки с грибами без бактерий. Далее культивирование осуществляли при 23 ± 2 °C. На 7-е сутки учитывали диаметр колонии (в см). Повторность эксперимента трёхкратная [7].

Статистическую обработку данных (тест ANOVA на уровне значимости $p \geq 0.05$) проводили, используя программное обеспечение PAST 4.12b. Результаты эксперимента отображены в таблице 1.

По отношению к контролю все выбранные штаммы бактерий статистически достоверно ингибируют рост *Alternaria* sp. По результатам теста ANOVA *B. cereus* и *B. megaterium* не отличаются между собой по силе воздействия ($p > 0.05$). Лучшее из бацилл ингибирует рост *Alternaria* sp. – *B. subtilis* ($p < 0.05$).

Отобранные штаммы псевдомонад также хорошо ингибируют рост *Alternaria sp.* Лучшими ингибиторами роста являются *Ps. aeruginosa* и *Ps. fluorescens* ($p<0.05$). Все три штамма, которые показали лучший результат: *B. subtilis*, *Ps. aeruginosa* и *Ps. fluorescens*, по результатам теста ANOVA, одинаково угнетали рост *Alternaria sp.* ($p>0.05$).

Табл. 1. Показатели ингибирования роста грибов *Alternaria sp.* и *Botrytis cinerea*

	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
	N±SD, см	N±SD, см
Контроль	5.9±0.4	9.0±0
<i>Ps. putida</i>	3.0±0.3*	9.0±0
<i>Ps. aeruginosa</i>	2.1±0.2*	3.4±0.6*
<i>Ps. fluorescens</i>	2.0±0.3*	2.8±0.5*
<i>B. megaterium</i>	4.7±1.0*	8.2±1.2
<i>B. subtilis</i>	1.6±0.3*	4.7±0.6*
<i>B. cereus</i>	4.4±0.7*	5.7±1.1*

Примечание: * – статистически значимые различия с контролем ($p<0.05$)

В результате анализа полученных нами данных по угнетению роста *Botrytis cinerea* все отобранные штаммы статистически достоверно угнетают рост микромицета. Среди штаммов *Bacillus* лучшим антагонистом оказался *B. subtilis* ($p<0.05$). Среди штаммов *Pseudomonas* – *Ps. aeruginosa* и *Ps. fluorescens* ($p<0.05$). Лучшим антагонистом среди 6-ти отобранных штаммов, которые подавляют рост *Botrytis cinerea* являются *B. subtilis*, *Ps. aeruginosa* и *Ps. fluorescens*.

На основании полученных нами результатов можно сделать вывод, что *B. subtilis*, *Ps. aeruginosa* и *Ps. fluorescens*

являются лучшими антагонистами роста *Alternaria sp.* и *Botrytis cinerea*, поражающих плоды баклажанов.

Список литературы

1. Елисеева, Т. Энциклопедия продуктов «Овощи и зелень» – ЛитРес: Самиздат, 2020. – С. 5-25.

2. Смирнов В.В., Киприанова Е.А. Бактерии рода *Pseudomonas*.; АН УССР, Ин-т микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного. — Киев: НД, 1990.— 264 с.

3. Хомяк А.И. Роль антигрибных метаболитов *Bacillus subtilis* при разработке технологии получения эффективных биофунгицидов: сборник трудов конференции / ФГБНУ «Всероссийский институт биологической защиты растений»; М. Сидороват, М. Асатуроваа. – Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2019. – 248-249 с.

4. Планриз для защиты от болезней // Клуб органического земледелия [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.cluboz.net/shop/sredstva-zashhity-rastenij/sredstva-zashhity-rastenij-ot-boleznej-rastenij/planriz-300ml>. – Дата доступа: 03.04.2023.

5. Биопрепарат для комплексной защиты растений АУ-РИН // Белорусский Государственный Университет [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.product.bsu.by/katalog/veschestva-i-materiali/agropromishlennij-kompleks/preparati-dlja-sel-skogo-i-lesnogo-hozjajstva/rasteniievodstvo/biopreparat-dlja-kompleksnoj-zaschiti-rastenij-aurin>. – Дата доступа: 03.04.2023.

6. 6. Биопрепарат для защиты растений «БАКТОГЕН» // ОАО «Бобруйский завод биотехнологий» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://gidroliz.by/production/one/26>. – Дата доступа: 03.04.2023.

7. 7. Поликсенова В.Д., Храмцов, Пискун С.Г. Методические указания к занятиям спецпрактикума по разделу «Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов» для ст. 4 к. дн. отд. специальности «G 31 01 01 – Биология» – Минск: БГУ, 2004, С. 36.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЧВЕННОГО ГРИБА *CLONOSTACHYS ROSEA* F *CATENULATA* V1349 В КАЧЕСТВЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ, А ТАКЖЕ ЕГО СРАВНЕНИЕ С ДРУГИМИ БИОПРЕПАРАТАМИ НА ОСНОВЕ *TRICHODERMA* SPP.

Варфоломеева Е.А., Альдекеева В.Б.
Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург

В настоящее время всё более актуальны поиски новых, более эффективных биопрепаратов для защиты растений от почвенных фитопатогенов, поскольку многие широко известные препараты состоят на основе *Trichoderma* spp., каждый препарат имеет определенный спектр действия, поэтому необходимо подбирать и использовать несколько препаратов для полноценной защиты растений от почвенных возбудителей болезней [1, 2]. В данной работе представлен альтернативный защитник растений, нами проведена оценочно-сравнительная работа, в которой на практическом примере сравнивалась эффективность Лабораторных Образцов (ЛО) на основе грибов *Clonostachys rosea* f *catenulata* V1349 и *Trichoderma* spp.

Авторами данной статьи, был выделен изолят *Clonostachys rosea* f.*catenulata* V1349 в естественных условиях из-под корней хлопчатника в полях Узбекистана.

Изолят прошел стадию идентификации и депонирования в ВКПМ 2022г.

В 2022г на пятом съезде Микологов России, нами была проведена работа с тем же (ЛО) на основе грибов

Clonostachys rosea f *catenulata* V1349, который показал свою эффективность в лабораторных условиях [3]. В данной работе нашей целью было наглядно показать эффективность ЛО в полевых испытаниях на разных культурах растений (Табл. 1, Табл. 2).

Табл. 1. Препараты используемые в работе и их характеристики

Препарат	Описание	Препаративная форма	Действующее вещество и КОЕ/г
ЛО	почвенный гриб с широкой фунгицидной активностью по отношению к почвенным возбудителям болезней растений	вермикулит с мицелием и спорами	<i>Clonostachys rosea</i> f <i>catenulata</i> V1349 титр не менее 3*9 КОЕ/г
Глиокладин СП	биологический фунгицид для подавления возбудителей грибных заболеваний	смачивающийся порошок	<i>Trichoderma harzianum</i> , штамм 18 ВИЗР титр 10*10 КОЕ/г
Триходерма Вериде 471 СП	биопрепарат для защиты растений от болезней	смачивающийся порошок	<i>Trichoderma veride</i> , штамм 471 титр не менее 1*9 КОЕ/г

Табл. 2. Схема внесения препаратов

Препарат	Норма расхода	Кратность применения	Способ внесения
ЛО	4,5 кг/га	3	Внесение в субстрат перед высадкой рассады, 2-кратный полив растений под корень.
Глиокладин СП	60 г/га, Расход рабочей жидкости - 1000-2000 л/га	5	Внесение в субстрат перед высадкой рассады и 4-кратный полив под корень.
Триходерма Вериде 471 СП	50 г/10 л воды. Расход рабочей жидкости - 100-200 мл/1 растение	4	Полив растений под корень в фазе 2-5 настоящих листьев, последующие - через 2, 4, 6 недель

В качестве испытания был выделен участок с растениями. Рододендрон Альбрехта *Rhododendron albrechtii* Maxim (Ericaceae), Рододендрон короткоплодный *Rhododendron brachycarpum* D. Don, Рододендрон кэтевбинский *Rhododendron catawbiense* Michx., Рододендрон кавказский *Rhododendron caucasicum* Pall., Рододендрон японский *Rhododendron japonicum* (A. Gray) Suring, Рододендрон Макино *Rhododendron makinoi* Tagg, Рододендрон крупный *Rhododendron maximum* L., Рододендрон Шлиппенбаха *Rhododendron schlippenbachii* Maxim., Рододендрон Смирнова *Rhododendron smirnowii* Trautv., Рододендрон Вазея *Rhododendron vaseyi* A. Gray., Пион древовидный *Paeonia × suffruticosa* Andrews (cv) (Paeoniaceae), Земляника садовая *Fragaria × ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier.

Испытуемый участок поделили на 3 части, в котором 1я часть была отведена в качестве контроля, вторая часть для испытаний систем защиты на основе *Trichoderma* spp, третья часть для ЛО на основе *Clonostachys rosea f catenulata* V1349. Испытания проводили на территории Ботанического сада Петра Великого БИН РАН (Санкт-Петербург), на растениях открытого грунта, на каждый участок было выделено не менее 100 растений.

Данная работа велась на протяжении 2х сезонов 2022 и 2023, сравнивали концентрацию почвенных фитопатогенов методом прямого титрования, концентрацию фитофторы оценивали по количеству пораженных растений.

Почву отбирали в 20 повторностях из разных мест, разных растений с одного участка. Методом прямого титрования с последующим высевом на плотную питательную среду, определяли КОЕ/г абсолютно сухой почвы. Идентификация фитопатогенов, в основном, проводилась микроскопическим методом. В таблице 3 представлены результаты микологического анализа почвенных образцов 2022-2023 гг.

Из представленной таблицы можно сделать вывод, что концентрация возбудителей болезней напрямую зависит от погодных условий, так в 2022г сезон был более солнечным и теплым, тем не менее Лабораторные Образцы на основе *Clonostachys rosea f catenulata* V1349, показали высокую эффективность в борьбе с почвенными фитопатогенами независимо от погодных условий и в дальнейшем могут использоваться в качестве биологического средства защиты растений.

Динамика изменения почвенных патогенов наглядно показывает их увеличение в контроле к концу года. Так быстрее нарастала плотность *Fusarium* spp. в среднем на 28% и *Botrytis* spp. на 16%, *Colletotrichum* spp. на 6% (Рис. 1, 2, 3).

В случае с *Phytophthora* spp. происходит резкое повышение почвенного патогена, особенно в 2023 году, объясняется это прохладной и дождливой весной, рост патогена увеличился на 65% (Рис. 4).

Табл. 3. Результаты микологического анализа почвенных образцов 2022-2023 гг.

Препараты	КОЕ грибов, тыс.шт. в одном г абсолютно сухой почвы			
	<i>Colletotrichum</i> spp. (антракноз)	<i>Botrytis</i> (серая гниль)	<i>Fusarium</i> spp. (фузариоз)	<i>Phytophthora</i> spp. (фитофтора), % расчет количества пораженных растений
начало 2022 г. участок 1. Контроль				
Без применения	1,3	0,8	2	10%
конец 2022 г. участок 1. Контроль				
Без применения	1,4	1,3	2,8	5%
конец 2022 г. после применения систем защиты на основе <i>Trichoderma</i> spp. участок 2				
Глиокладин СП	0,4	0,7	2	4%
Триходерма Вериде 471 СП				
конец 2022 г. после применения систем защиты лабораторных образцов участок 3				
Лабораторные Образцы (ЛО) на основе <i>Clonostachys rosea f catenulata</i> V1349	0,5	0,4	0,6	менее 1%
начало 2023 г. участок 1. Контроль				
Без применения	0,9	1,8	3,2	15%
конец 2023 г. участок 1. Контроль				
Без применения	1,6	2,2	4,8	45%
конец 2023 г. после применения систем защиты на основе <i>Trichoderma</i> spp. участок 2				
Глиокладин СП	1,0	1,5	4,1	33%
Триходерма Вериде 471 СП				
конец 2023 г. после применения систем защиты лабораторных образцов участок 3				
Лабораторные Образцы (ЛО) на основе <i>Clonostachys rosea f catenulata</i> V1349	0,6	0,7	0,8	10%

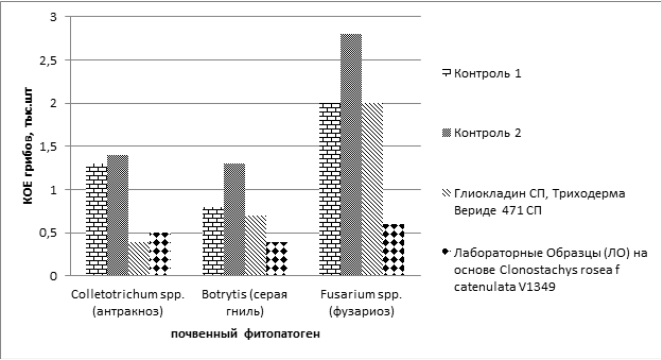


Рис. 1. Динамика изменения почвенных патогенов в 2022 году

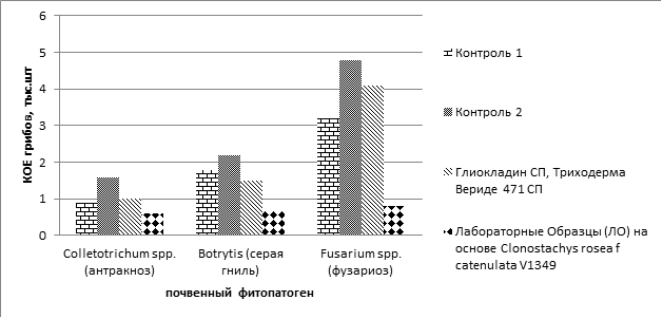


Рис. 2. Динамика изменения почвенных патогенов в 2023 году

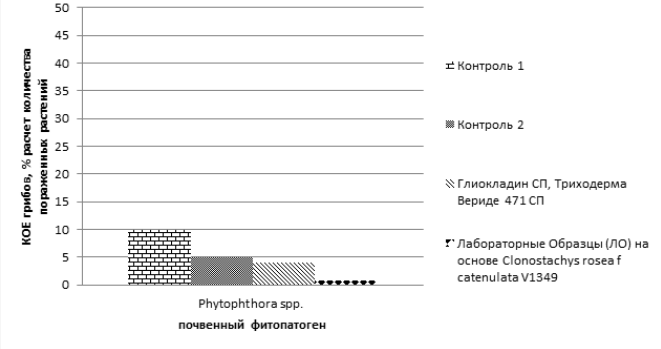


Рис. 3. Динамика изменения *Phytophthora* spp. в 2022 году

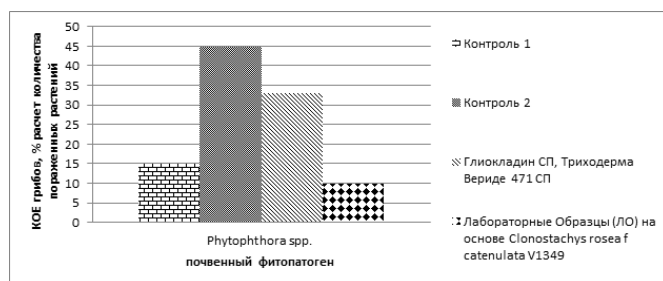


Рис. 4. Динамика изменения *Phytophthora* spp. в 2023 году

Динамика почвенных патогенов наглядно показывает их подавление при использовании двух препаративных форм, но в нашем случае перспективность использования ЛО оказалась более эффективной.

Список литературы

1. Методы определения болезней и вредителей сельскохозяйственных растений. /пер. с нем. К.В. Попковой, В.А. Шмыгли. - М.: Агропромиздат, 1987. - 224 с.
2. Попкова К.В., Шкаликов В. А., Стройков Ю. М., др. Общая фитопатология: учебник для вузов. - М.: Дрофа, 2005. - 445с.
3. Варфоломеева Е.А., Бочкова В.Б. Выделение и изучение почвенного гриба *Clonostachys rosea* f. *catenulata* V1349 с дальнейшим практическим применением в качестве штамма-продуцента биопрепарата для защиты растений // Современная микология в России. 2022. Т.9. Вып. 6. С. 410-413 doi: 10.14427/cmr.2022.ix.10

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФУНГИЦИДОВ ДЛЯ ОСЕННЕЙ ОБРАБОТКИ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ

Зейрук В.Н.¹, Белов Г.Л.¹, Еланский С.Н.^{2,3*}

¹ Федеральный исследовательский центр картофеля имени А.Г. Лорха, Моск. обл.

² Российский университет дружбы народов, Москва

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

С целью расширения ассортимента препаратов для осенней обработки клубней особое внимание заслуживает применение новых экологически безопасных препаратов с принципиально новыми механизмами действия, способствующими снижению порченности патогенами в период длительного хранения.

С этой целью в течение 2020-2023 гг. были проведены лабораторные и полевые испытания биологически активных и химических препаратов для осенней обработки клубней картофеля. Перед закладкой на хранение провели обработку следующими препаратами: Картофин (7,5 г/т), Кагатник, ВРК (0,3 л/т) и Синклер, КС (0,2 л/т) и в качестве эталона – Максим, КС (0,2 л/т). Биопрепарат Картофин (7,5 г/т) – получен путем микробиологического синтеза на основе культуры *Bacillus subtilis* штамм И5-12/23. Действующим началом препарата являются живые споры и комплекс антибиотиков, выделяемых бактерией. Расход рабочей жидкости во всех случаях был 10 л/т.

Закладка образцов клубней картофеля на длительное хранение была проведена в картофелехранилище № 1 ФГБНУ ВНИИКХ. Хранилище навалой типа с высотой насыпи 2 м, вентиляция естественная. После закладки вариантов в картофелехранилище температура составляла от 1,5 до 4 °С. Относительная влажность воздуха – 85-95%.

Опыты проводили в соответствии со стандартными методиками, изложенными в изданиях [3, 4]. Эксперименты по хранению проводили в 4-кратной повторности, масса клубней в повторности – 5 кг. После проведения обработки клубней препаратами или водой их помещали в насыпь картофеля на глубине 40-45 см от поверхности насыпи клубней.

Исследования по последдействию препаратов проводили в полевых мелкоделяночных опытах. Площадь опытных делянок 25 м², повторность трёхкратная. Биологическую эффективность снижения распространенности ризоктониоза рассчитывали по формуле: БЭ = 100(Р-О)/ Р, где: БЭ – эффективность, выраженная в процентах, снижения распространенности болезни; Р и О –

распространенность болезни в контроле и в варианте соответственно, %.

Из пораженных клубней после периода покоя были выделены фитопатогенные грибы и протестирована их устойчивость к фунгицидным препаратам, использованным для осенней обработки клубней. Выделение грибов проводили методом влажных камер, а определение их видовой принадлежности – культурально-морфологическими и молекулярно-генетическими методами (секвенирования видоспецифичных участков) [5, 6]. Из тестируемых клубней были выделены в чистые культуры штаммы *Cephalotrichum asperulum* (J.E. Wright & S. Marchand) Sand.-Den., Guarro & Gené, *Clonostachys solani* (Harting) Schroers & W. Gams, *Fusarium solani* SC, *F. oxysporum* SC, *Geotrichum candidum* Link, *Helminthosporium solani* Durieu & Mont., *Plectosphaerella cucumerina* (Lindf.) W. Gams, *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn. Оценку устойчивости выделенных штаммов грибов к фунгицидам проводили на агаризованной среде с добавлением соответствующего препарата в концентрациях 0,1; 1,0; 10,0; 100,0 мг/л и на среде без фунгицида (контроль). Эксперименты выполняли в трёх повторностях. Для каждого изолята определяли показатель ЕС₅₀ (50% эффективной концентрации), т.е. концентрацию фунгицида, снижающую в 2 раза скорость радиального прироста колонии относительно бесфунгицидного контроля.

Оценка устойчивости к бензойной кислоте (препарат Кагатник, ВРК) показала, что большинство протестированных грибов были умеренно восприимчивы к этому фунгициду. Для грибов *Plectosphaerella cucumerina*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Rhizoctonia solani* показатель ЕС₅₀ не превышал 100 мг/л. Повышенную устойчивость показал *C. coccodes* (ЕС₅₀ = 250 мг/л).

Флудиоксонил (фунгициды Максим, КС и Синклер, КС) оказывал слабое влияние на рост грибов *F. oxysporum* и *P. cucumerina* (ЕС₅₀ >10 мг/л), однако достаточно хорошо сдерживал рост *F. solani* (ЕС₅₀ = 1,6 и 5,4 мг/л), оказывал сильное ингибирующее воздействие на *Clonostachys solani* и *R. solani* (ЕС₅₀ < 0,5 мг/л). *C. coccodes* показал

себя высоковосприимчивым к этому препарату ($EC_{50} = 0,8$ мг/л). Однако при длительном культивировании на среде с флудиоксонилом некоторые изоляты грибов не погибали и через 15-20 суток образовывали быстро растущие сектора. Мицелий, взятый из сектора, рос намного быстрее на чашке с вновь разлитой средой с фунгицидом, чем исходный изолят.

Тиabendазол (препарат Имикар, КС, $EC_{50} = 0,7-5,0$ мг/л) и биопрепарат на основе *Bacillus subtilis* (Картофин) оказались эффективными в отношении всех исследованных грибов. В то же время были выявлены высокоустойчивые штаммы *Helminthosporium solani*, способные к росту на среде, содержащей 100 мг/л препарата.

Результаты фитопатологического анализа, проведенного весной, после периода хранения, показали, что обработка клубней всеми изучаемыми химическими и биопрепаратами сократила количество больных клубней картофеля и улучшила их лёжкость в хранилище по сравнению с контрольным вариантом. Так, обработки клубней химическими фунгицидами позволили снизить количество больных клубней от 2,7% (Кагатник, ВРК) до 3,8% (Синклер, КС), а биопрепаратом Картофин – на 3,2%.

Кроме того, было оценено влияние химических и биологических препаратов на семенные качества картофеля в последствии. Погодные условия 2020-2023 гг. способствовали развитию ризоктониоза. Процент пораженных растений в фазу полных всходов в контрольном варианте опыта составил в среднем за 4 года исследований 15,3%. Биологическая эффективность последствия применения химических препаратов в снижении пораженных растений ризоктониозом составила от 41,0% (Кагатник, ВРК) до 62,1% (Имикар, КС), биопрепарата Картофин – 22,9%.

Таким образом, для снижения влияния отрицательных факторов на хранящиеся клубни, обеспечения высокого качества клубней, предупреждения развития гнилей, сведения до минимума потерь, эффективной защиты на первых этапах онтогенеза культуры от почвен-

но-клубневых болезней на подземных органах предложены препараты для осенней обработки, включающий действующее вещество бензойная кислота и биопрепарат на основе *B. subtilis*. Высокую эффективность подтвердили препараты флудиоксонил и тиabendазол.

Исследование выполнено при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 23-16-00048).

Список литературы

1. Новикова И.И., Титова Ю.А., Бойкова И.В. и соавт. Биологическое обоснование оптимизации препаративных форм биопрепаратов на основе микробов-антагонистов для контроля популяций фитопатогенных грибов и бактерий – возбудителей болезней растений. Вестник защиты растений. – 2017. – № 3. – С. 16-23.
2. Белов Г.Л., Зейрук В.Н., Мальцев С.В., Абашкин О.В., Абросимов Д.В. Применение химических и биологических препаратов для защиты картофеля при хранении // Агрохимический вестник. – 2020. – № 6. – С. 75-78.
3. Жевора С.В., Федотова Л.С., Старовойтов В.И., Зейрук В.Н., Коршунов А.В., Пшеченков К.А., Тимошина Н.А., Мальцев С.В., Старовойтова О.А., Васильева С.В., Шабанов А.Э., Деревягина М.К., Белов Г.Л., Киселев А.И., Князева Е.В. Методика проведения агротехнических опытов, учетов, наблюдений и анализов на картофеле.. – М.: ФГБНУ ВНИИКС, 2019. 120 с.
4. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – М., 1985.
5. Г.Л. Белов, С.Н. Еланский, Л.Ю. Кокаева, В.Н. Зейрук. Каталог коллекции чистых культур возбудителей грибных болезней картофеля и других пасленовых. – М.: ФГБНУ ВНИИКС, 2016. – 31 с.
6. White T.J., Bruns T., Lee S.J.W.T., Taylor J.W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Taylor J., Innis M.A., Gefland D.H., Sninsky J.J. (eds). PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications, 1990. pp. 315-322. Academic Press, NY, USA.

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Current Mycology in Russia

Том 10

Выпуск 5.

Грибные биотехнологии

Глава 9.

**Новые грибные биотехнологии.
Культивируемые грибы**

doi: 10.14427/cmr.2024.x.09

Volume 10

Issue 5.

Biotechnology from fungi

Chapter 9.

**What's new in fungal
biotechnology. Cultivable fungi**

doi: 10.14427/cmr.2024.x.09

Содержание выпуска 5

Глава 9. Грибные биотехнологии

ИНГИБИРОВАНИЕ РОСТА МОДЕЛЬНОГО ШТАММА <i>MYCOBACTERIUM SMEGMATIS</i> GK B-836 КОМПОНЕНТАМИ ГРИБА <i>INONOTUS OBLIQUUS</i> Андреева И.С., Петровская И.Ф., Тотменина О.Д., Болдырев А.Н., Теплякова Т.В.	320
МОРФО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МИЦЕЛИЯ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГИМЕНОХЕТОИДНЫХ ГРИБОВ Бадалян С.М., Гарибян Н.Г.	322
ПОИСК ГЕНОВ ЛИГНОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА У БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ Бессолицына Е.А. Попыванов Д.В. Бакулина А.В.	323
ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА ЦЕЛЛЮЛАЗ <i>IRPEX LASTEUS</i> ДЛЯ ОСАХАРИВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОТХОДОВ Чемерис О. В.	324
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ СИБИРСКИХ ШТАММОВ <i>INONOTUS OBLIQUUS</i> (FR.) PILÁT Фомина Н.В. Литовка Ю.А. Талуть В.И. Мосеева М.В. Палей А.С. Гусева М.А. Павлов И.Н.	326
ВЛИЯНИЕ <i>TRICHODERMA ASPERELLUM</i> НА АКТИВНОСТЬ НИТРАТРЕДУКТАЗЫ И НАКОПЛЕНИЯ NO ₃ В ОРГАНАХ СОЯ И ЯЧМЕНЬ В УСЛОВИЯХ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ Гадимов А.Г. Рагимова С.Н. Тахирли С.М., Алескерова Ф.Э. Эйвазова Г. З.	327
РАБОЧАЯ КОЛЛЕКЦИЯ КУЛЬТУР БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ, КАК ОСНОВА РАЗРАБОТКИ БИОТЕХНОЛОГИЙ Краснопольская Л.М., Зянгириова М.Ю., Шуктуева М.И., Автономова А.В., Лысакова В.С.	329
АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ИЗ ПОРЯДКА ПОЛИПОРОВЫХ. Лысакова В. С., Синева О. Н., Исакова Е. Б., Краснопольская Л. М.	331
СЕЗОННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ СЪЕДОБНЫХ ГРИБОВ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ Михалева Л.Г.	332
МИЦЕЛИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОДУЦЕНТЫ ОКИСЛЯЮЩИХ ЛАКТАТ ФЕРМЕНТОВ Семашко Т.В., Жуковская Л.А., Василевская М.Е.	334
КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА И БИОСИНТЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ШТАММОВ КСИЛОТРОФНОГО БАЗИДИОМИЦЕТА <i>SARCODONTIA SETOSA</i> ИЗ КОЛЛЕКЦИИ LE-BIN Шахова Н. В., Волобуев С. В.	335
ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ РТУТИ И МЫШЬЯКА В <i>AGARICUS CAMPESTRIS</i> , ВЫРАЩЕННЫХ НА МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ Шевченко С. Е., Базаркин А.Ю.	336
ВОЗМОЖНОСТЬ БИОДЕГРАДАЦИИ ПОЛИЭТИЛЕНА МЕСТНЫМ ШТАММОМ <i>SHIZOPHYLLUM COMMUNE</i> EO22 Широких А.А. Широких И.Г.	338
ДРОЖЖЕВЫЕ ГРИБЫ РОДА <i>RHODOTORULA</i> КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОДУЦЕНТЫ КАРОТИНОИДОВ Шляхотко Е.А., Мартынова Е.А., Сапунова Л.И.	340
СВОЙСТВА ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗ ГРИБОВ РОДА <i>PENICILLIUM</i> Жуковская Л.А., Семашко Т.В.	341

Глава 9

Грибные биотехнологии

10.14427/cmr.2024.x.09

ИНГИБИРОВАНИЕ РОСТА МОДЕЛЬНОГО ШТАММА
MYCOBACTERIUM SMEGMATIS GK B-836
КОМПОНЕНТАМИ ГРИБА *INONOTUS OBLIQUUS*Андреева И.С., Петровская И.Ф., Тотменина О.Д.,
Болдырев А.Н., Теплякова Т.В.

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово

По информации Роспотребнадзора в России за первые 5 месяцев 2023 г. по сравнению с показателем 2022 г. суммарная заболеваемость туберкулезом выросла на 4 %. Детская статистика выглядит менее благоприятно: так, согласно данным отчета, с начала 2023 г. впервые выявленный туберкулез обнаружен на 17 % больше прошлогоднего показателя. Возбудителем туберкулеза является бактерия *Mycobacterium tuberculosis*, чаще всего поражающая легкие. Важной проблемой является обнаружение все большего распространения штаммов туберкулезной бактерии полирезистентной к антибиотикам, что делает их бесполезными и создает большие сложности при лечении инфицированных людей. Сегодня каждый 5-й впервые выявленный больной имеет устойчивость к основным сильнейшим препаратам, а среди ранее леченных пациентов таких 40 %. Россия по-прежнему входит в ТОП самых обремененных этим недугом стран. Поиск активных соединений, антагонистов микроорганизмов, эффективно угнетающих рост бактерии *M. tuberculosis*, является актуальным и востребованным.

Микобактерии – грамположительные, неспорообразующие, неподвижные, строго аэробные бактерии палочковидной формы. Для некоторых видов характерны признаки полиморфизма – образование клеток нитевидной формы с элементами ветвления, схожих по внешнему виду с мицелием грибов. Характерным признаком практически для всех видов рода *Mycobacterium* является выраженная кислотоустойчивость за счет большого количества миколовых кислот в составе клеточной стенки.

Бактерия *M. smegmatis* используется в мировой научной практике, как модельный кислотоустойчивый микроорганизм, аналог туберкулезной палочки, так как по многим морфо-физиологическим признакам они схожи [1]. *M. smegmatis* относится к группе быстрорастущих «нетуберкулезных микобактерий», имеет скорость деления, превосходящую *M. tuberculosis* приблизительно в 12 раз, и культивируется на простых питательных средах [2], широко применяется как тест-штамм при определении чувствительности к различным препаратам, направленным на инактивирование кислотоустойчивых бактерий рода *Mycobacterium*, включая *M. tuberculosis*.

Лекарственный гриб трутовик скошенный *Inonotus obliquus* (Ach.:Pers.) Pilat (Basidiomycota), также называемый чага, представляет значительный интерес в качестве источника лечебных и профилактических средств с широким спектром биологической активности [3]. В ГНЦ ВБ Вектор Роспотребнадзора

проводятся исследования по выделению в чистую культуру эффективных штаммов чаги, получению меланина из природного сырья и биомассы, полученной при погруженном культивировании, и изучению их противовирусной активности в отношении гриппа, герпеса, ВИЧ, ортопоксвирусов (включая вирус натуральной оспы), коронавируса SARS-CoV-2 [4,5]. Помимо широкого спектра противовирусного действия компоненты чаги проявляют антибиотическую активность, антибактериальное и антигрибковое действие показано в отношении культур тест-штаммов бактерий (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) и дрожжевых грибов (*Candida albicans*, *Candida sp.* Ft-5 (клинический изолят)) [6,7].

Целью настоящего исследования являлось определение антимикробной активности компонентов *I. obliquus* относительно патогенных бактерий, включая кислотоустойчивые бактерии на примере модельного тест-штамма *M. smegmatis*.

Материалы и методы

Штаммы: *M. smegmatis* GK B-836; *I. obliquus* (Ach.:Pers.) Pilat (Basidiomycota) F-1375, депонированные в коллекции бактерий, бактериофагов и грибов ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия)

Питательные среды: среда LB (Difco, USA), среда ГРМ, среда Сабуро (ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболensk).

Подготовка образцов. Исследованы водные экстракты аптечной чаги 20-17, меланина из аптечной чаги 20-24, из черной и коричневой части склеротия природной чаги 23-04 и 23-05 соотв., технология их подготовки представлена в [8,9]. Образцы меланина штамма *I. obliquus* F-1375 получены по [10] в условиях погруженного культивирования. Масса сухого вещества в каждом образце – 2 мг/мл.

Подготовка клеточной суспензии, проведение опыта: культуру микроорганизмов, хранящуюся при низкотемпературном замораживании высевали на агаризованную питательную среду, инкубировали в течение 48 ч., при температуре 37°C. Выросшую культуру высевали в пробирки с жидкой средой LB, инкубировали в течение 18 ч., при температуре 37°C. С использованием физраствора и стандарта мутности готовили разбавленные суспензии клеток бульонных культур с концентрацией $1-5 \times 10^5$ кл/мл. Полученную суспензию по 160 мкл вносили в лунки стерильного планшета и добавляли по 40 мкл каждого из образцов. В контрольную лунку к суспензии клеток добавляли 40 мкл физраствора.

Определение титра жизнеспособных клеток в опытных и контрольных суспензиях проводили, высевая десятикратные их разведения в нулевой точке опыта и через 1, 2, 4, 5, 24 часов инкубирования при температуре 37°С. Эффективность антимикробного действия образцов определяли по разнице титра клеток в опыте и контроле.

Табл. 1. Антимикробное действие образцов *I. obliquus* в отношении *M. smegmatis* GK B-836

Образцы экстрактов/ титр жизнеспособных клеток (КОЕ/мл)									
Время (час)	20-17	20-24	Контроль	Время (час)	21-27	23-04	23-05	23-69	Контроль
0	6,0x10 ⁴	6,3x10 ⁴	6,0x10 ⁴	0	1,0x10 ²	6.0x10 ⁴	5.1x10 ⁴	1,0x10 ²	2,0x10 ⁴
5	2,6x10 ⁴	5,0x10 ⁴	2,6x10 ⁴	4	0	6.0x10 ⁴	2.6x10 ⁴	0	6.0x10 ⁴
24	4,1x10 ⁴	4,6x10 ⁴	4,0x10 ⁴	24	0	8,0x10 ³	1.0x10 ⁴	0	2.0x10 ⁴

Табл. 2. Антимикробное действие образца 21-27 *I. obliquus* в отношении *M. smegmatis* GK B-836

Штамм/вариант опыта	Время инкубирования / Титр жизнеспособных клеток (КОЕ/мл)					
<i>M. smegmatis</i>	0 ч.	1 ч.	2 ч.	4 ч.	5 ч.	24 ч.
Без добавок	5,1x10 ³	6,0x10 ³	8,0x10 ³	1,1x10 ⁴	1,1x10 ⁴	6,6x10 ³
Образец 21-27	4,0x10 ³	5,0x10 ²	0p:0	0p: 0,1	0p: 0,1	0p: 0,1
Без добавок	2,0x10 ⁴	1,0x10 ⁴	7,0x10 ³	1,0x10 ⁴	1,0x10 ⁴	2,3x10 ⁴
Образец 21-27	4,0x10 ³	3,2x10 ²	0	0	0	0
Без добавок	1,0x10 ⁵	2,0x10 ⁵	1.3x10 ⁴	2,0x10 ⁵	2,0x10 ⁵	9.0x10 ⁴
Образец 21-27	7.0x10 ⁴	6,3x10 ³	1,7x10 ³	1,0x10 ³	1,0x10 ³	2,1x10 ³

Результаты и обсуждение
Как видно из данных таблицы 1 образцы аптечной и природной чаги *I. obliquus* не проявляют выраженного абиотического действия в условиях эксперимента. Образцы меланина 21-27 и 23-69 штамма *I. obliquus* F-1375 уже с нулевой точки инкубирования угнетали рост штамма *M. smegmatis*, а с 4-го ч. совместного инкубирования жизнеспособные клетки штамма не были обнаружены. Было показано, что эффективность действия образца 21-27 зависит от времени инкубирования и исходного титра клеток тест-штамма в суспензии:

- при исходном титре клеток 10⁵ КОЕ/мл уже через 2 ч. титр снижается на 2 порядка, эффект является пролонгированным до 24 ч.;
- при исходном титре 10³ КОЕ/мл в течение 1,5-2 ч. наблюдается снижение титра клеток на порядок, и далее жизнеспособные клетки тест-штамма не были обнаружены.

Полученные в результате проведенного исследования данные свидетельствуют о том, что меланины культивируемых штаммов *I. obliquus* могут рассматриваться в качестве веществ, обладающих не только противовирусным, но и антибактериальным потенциалом, и перспективных компонентов комплексных лекарственных и профилактических препаратов.

Финансирование Работа выполнена в рамках ГЗ-29/21 ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Список литературы

1. Беспятовых Ю. А. Геномная и протеомная характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis* кластера Beijing B0/W148 / науч. руководитель д.б.н. профессор РАН Е. Н. Ильина. — М., 2016. — С. 36, 38. — 377 с.

2. Майрова АА. Индентификация нетуберкулезных микобактерий и выбор оптимальной комбинации методов для их видовой дифференциации: Автореф. дис. канд. биол. наук. – М.: ФГУЗ «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора РФ, 2007. – 26 с.

3. Ern P, Tang Y.-Q, Fung S. et al. Therapeutic properties of *Inonotus obliquus* (Chaga mushroom): a review. *Mycology*. 2023. 1-18.

4. Теплякова Т.В., Пьянков О.В., Косогова Т.А. и соавт. Трутовик скошенный, чага *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát – перспективный гриб для получения противовирусных препаратов. / Микология сегодня /под редакцией А.В. Куракова и А.Ю. Сергеева. Том 4. - М.: Национальная академия микологии, 2022.- С.107-119.

5. Теплякова Т.В., Пьянков О.В., Мазуркова Н.А. и соавт. Трутовик скошенный, чага *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát – перспективный гриб для получения препаратов в отношении новой коронавирусной инфекции и других опасных инфекционных заболеваний. Сборник материалов IV Междун. научно-практич. конференции «Противодействие новой коронавирусной инфекции и другим инфекционным заболеваниям» / под ред. д-ра мед. наук, проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН, д-ра мед. наук, проф. В.В. Кутырева. – Саратов: Амирит, 2023. – с. 306-308.

6. Теплякова Т.В., Косогова Т.А., Андреева И.С. и соавт. Антивирусная, антибактериальная и антигрибковая активность компонентов трутовика скошенного, чаги *Inonotus obliquus* (Fr.) Pil // Успехи медицинской микологии. 2019. Т. 20. С. 535-540.

7. Teplyakova T.V., Ilyicheva T.N., Andreeva L et al. The activity of components of true tinder mushroom, chaga *Inonotus obliquus* (Fr.) Pil. against viruses, bacteria and fungi // Abstract of the 10th International Medicinal Mushroom Conference (September 19-22, 2019, Nantong, China). P. 117.

8. Теплякова Т.В., Пьянков О.В., Скарнович М.О. и соавт. Ингибитор репликации коронавируса SARS- CoV-2 на основе водного экстракта гриба *Inonotus obliquus*. Патент РФ № 2741714, 28.01.2021 г.

9. Теплякова Т.В., Пьянков О.В., Скарнович М.О. и соавт. Ингибитор репликации коронавируса SARS-CoV-2 на основе меланина из гриба *Inonotus obliquus*. Патент РФ № 2747018, опубли. 23.04.2021 г.

10. Теплякова Т. В., Маркович Н. А., Гашникова Н. М. и соавт. Продукция меланина грибом *Inonotus obliquus* F-1375 при культивировании в жидкой среде и его антиретровирусные свойства. Прикл. биохимия и микробиология, 2023, Т. 59, № 4, стр. 376-382.

МОРФО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МИЦЕЛИЯ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГИМЕНОХЕТОИДНЫХ ГРИБОВ

Бадалян С.М., Гарибян Н.Г.

Ереванский государственный университет, Армения

В кладе гименохетоидных грибов (класс Agaricomycetes, порядок Hymenochaetales) преобладают виды, ранее отнесенные к семействам Corticiaceae, Polyporaceae и Stereaceae [Badalyan, Gharibyan 2020]. Большинство этих видов вызывают белую гниль древесины. Многие гименохетоидные (семейство Hymenochaetaceae) из родов *Inonotus* (*I. dryophilus*, *I. dryadeus*, *I. hispidus*, *I. obliquus*) и *Phellinus* (*Ph. igniarius*, *Ph. linteus*, *Ph. pini*, *Ph. tuberculosus*, *Ph. robustus*) относятся к лекарственным грибам. Благодаря содержанию биоактивных соединений (полисахариды, терпеноиды, фенольные соединения и др.) они обладают различным терапевтическим действием (антиоксидантное, противовоспалительное, антифунгальное, антидиабетическое, кардиозащитное и др.) [Deshmukh et al., 2019; Badalyan, Gharibyan 2020].

Гименохетоидные грибы легко выделяются и растут в культуре. Выявление имеющих таксономическое значение морфо-экологических характеристик мицелия позволит контролировать процесс их биотехнологического культивирования с целью получения биомассы и биоактивных метаболитов, а также различных биотехпродуктов [Badalyan, Gharibyan, 2017, Badalyan, Zambonelli, 2023].

Нами исследовались морфо-экологические особенности мицелия шести штаммов трех гименохетоидных видов армянского происхождения *Inonotus hispidus* (Inh/1, Inh/3, Inh/4), *Phellinus robustus* (Pro/02, Pro/03) и *Ph. tuberculosus* (Ptu/05), растущих на различных древесных субстратах (*Morus alba*, *Morus nigra*, *Ulmus* sp., *Salix alba*, *Prunus* sp.). Мицелий выращивали на среде сусло-агар (4° по Баллингу, pH 6) при температурах 20, 25, 30, и 35 °C. Описывались характер и динамика роста колоний, а также микроструктуры вегетативного мицелия. Суточный прирост мицелия отмечался ежедневно, до полного нарастания чашки. Средняя скорость роста мицелия ($CP_{\text{сред}}$, мм/сут) исчислялась из суточных показателей. Микроструктуры вегетативного мицелия исследовались с помощью светового микроскопа с камерой (Omano T-157, OptixCam 15x40) после выращивания на покровных стеклах [Badalyan et al., 2011].

Штаммы *I. hispidus* на десятые сутки роста при 25 °C сформировали концентрически-зональные ярко-желтые колонии с хорошо развитым ватно-шерстистым воздушным мицелием, в середине более темным, по краям беловатым, без запаха, агар светло-коричневый. $CP_{\text{сред}}$ штаммов *I. hispidus* при 20, 25 и 30 °C составила соответственно 1.6-2.7, 2.7-5.0 и 5.0-6.2 мм/сут. Штаммы *Ph. robustus* в тех же условиях роста сформировали оранжево-желтые, шерстисто-войлочные, по краям белые колонии, с приятным фруктовым запахом, агар рыжевато-коричневый. При 20, 25 и 30 °C штаммы *Ph. robustus* росли со скоростью соответственно 2.6-2.7, 3.4-3.6 и 2.5-3.0 мм/сут. Штамм *Ph. tuberculosus* сформировал ли-

монно-желтую с темно-желтой зональностью, по краям белую, ватно-шерстистую колонию, без запаха, агар без изменений. В поздние сроки наблюдалось наличие бордово-коричневого экссудата. Показатели скорости роста при 20, 25 и 30 °C составили 1.8, 2.6 и 2.0 мм/сут. При исследованных температурах не наблюдалось изменения морфологического типа колоний. Таким образом, наиболее оптимальной для роста *I. hispidus* была температура 30 °C, а для *Ph. robustus* и *Ph. tuberculosus* - 25 °C.

Для роста всех исследуемых видов/штаммов неблагоприятной оказалась 35 °C. *I. hispidus*, *Ph. robustus* и *Ph. tuberculosus* проявили низкие показатели $CP_{\text{сред}}$: соответственно 0.6-1.1, 1.6-1.8 и 1.4 мм/сут. Колонии были с присплюснутым воздушным мицелием, с коричневой пигментацией мицелия и агара.

На гифах исследованных видов/штаммов *Inonotus* и *Phellinus* отсутствовали пряжки. Апикальные и интеркалярные хламидоспоры были описаны у *I. hispidus* при 35 °C, а многочисленные тетраэдральные кристаллы на гифах у *Ph. robustus* и *Ph. tuberculosus*.

Полученные результаты будут способствовать дальнейшему культивированию мицелия исследованных лекарственных видов с целью оценки их биотехнологического потенциала.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета по науке РА в рамках научного проекта № 21T-1F228.

Список литературы

1. Badalyan SM, Gharibyan NG. 2020. Pharmacological properties and resource value of hymenochaetoid fungi (Agaricomycetes) distributed in Armenia: Review. *Int J Med Mushrooms*. 22: 1135–1146.
2. Badalyan SM, Gharibyan NG. 2017. Characteristics of mycelial structures of different fungal collections. Yerevan: YSU Press, 176 p.
3. Deshmukh SK, Prakash V, Gupta M. 2019. The genus *Phellinus*: a rich source of diverse bioactive metabolites. *Advances in Macrofungi: Diversity, Ecology and Biotechnology*. Sridhar KR & Deshmukh SK, editors. Boca Raton: CRC Press, p. 278-304.
4. Badalyan SM, Zambonelli A. 2023. The Potential of Mushrooms to Develop Healthy Food and Biotech Products. In: *Fungi and Fungal Products in Human Welfare and Biotechnology*. Eds. T. Satyanarayana & Deshmukh SK, Springer Nature Singapore. pp. 307-344.
5. Badalyan SM, Navarro-González M, Kües U. 2011. Taxonomic significance of anamorphic characteristics in the life cycle of coprinoid mushrooms. In: *Mushroom Biology & Mushroom Products*. J-M Savoie, M. Foulongne-Oriol, M. Largeteau, G. Barroso (Eds.). *Proceed. ICMBMP7*. Vol. 1, 4-7 October, 2011, Arcachon, France, p. 140-154.

ПОИСК ГЕНОВ ЛИГНОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА У БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

Бессолицына Е.А.¹, Попыванов Д.В.^{1,2}, Бакулина А.В.¹
¹ФАНЦ Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого, Киров,
²НИИЦ Миколайн, Киров

Лигнин является одним из основных компонентов растительной биомассы и отличается высокой химической стойкостью, что затрудняет его биологическую переработку. Изучение лигнолитического комплекса базидиальных грибов представляет собой не только фундаментальный интерес, но и имеет важное прикладное значение для сельского хозяйства и различных отраслей промышленности [1, 2].

Лигнолитические ферментные системы грибов, принимающие участие в модификации биополимеров древесины, включают спектр множественных форм оксидоредуктаз трех основных структурных типов.

К первому типу относятся гемсодержащие ферменты, среди которых принято особо выделять лигнинпероксидазы и марганецпероксидазы. Ко второму типу относятся флавиносодержащие ферменты. Среди них – глюкозооксидазы, метанол-оксидазы и др. Третий тип включает медьсодержащие ферменты – голубые оксидазы – лакказы и родственные им неголубые оксидазы [3].

Марганец-зависимая пероксидаза (ЕС 1.11.1.13) – может катализировать окисление нефенольных промежуточных структур лигнина только в присутствии Mn^{2+} .

Лакказа (ЕС 1.10.3.2) – медьсодержащий фермент, катализирующий реакции окисления различных производных фенола (о, п-дифенолы, аминокфенолы, производные пара-гидроксикоричной кислоты и др.) кислородом воздуха.

Лигнинпероксидаза (ЕС 1.11.1.14) принадлежит к суперсемейству растительных пероксидаз, катализирующих многоступенчатую окислительную реакцию различных доноров электронов перекисью водорода [4].

В качестве продуцентов оксидоредуктаз в промышленности нашли применение трутовые базидиомицеты и грибы белой гнили. Каталитические свойства этих ферментов дают возможность их широкого использования в целлюлозно-бумажной промышленности для делигнификации бумажной пульпы, в текстильной промышленности для отбеливания тканей, для детоксикации и обесцвечивания сточных вод, для биodeградации ксенобиотиков [5, 6, 7].

Высшие базидиальные грибы также служат источником биологически активных веществ ценных для медицины и косметологии, таких как витамины, убихиноны (коферменты), ферменты, антиоксиданты, незаменимые жирные кислоты и аминокислоты, микроэлементы и др. Это выдвигает их на первый план в качестве дешевого сырья для получения фармакологически ценных компонентов [8]. Ферментативная активность ксилотрофных грибов влияет на состав биоактивных соединений в составе мицелия и плодовых тел. Продукция лигнолитических ферментов обеспечивает базидиомицетам доступ к питательным веществам, что может оказывать влияние на лекарственные свойства данных грибов.

Целью настоящей работы явилось определение наличия генов лигнолитического комплекса (марганец-зависимой пероксидазы, лакказы, лигнинпероксидазы) в геноме ксилотрофных базидиальных грибов.

Объектом исследования служили базидиальные грибы из коллекции лаборатории биотехнологических методов селекции сельскохозяйственных растений ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока. Изучали 10 изолятов базидиомицетов, принадлежащих к семи видам: *Fomes fomentarius* (изоляты FF1 и FF2), *Laetiporus sulphureus* LS, *Phellinus igniarius* PI1, *Lentinula edodes* LE, *Ganoderma lucidum* Reishi, *Ganoderma applanatum* GA1, *Hericium erinaceus* (изоляты BP16, 2530, Pride). Грибы культивировали на сусло агаре (сусло разведенное дистиллированной водой до 4° по Баллингу). Суммарные нуклеиновые кислоты выделяли гуанидин изотиоцианатным методом [9] из колоний грибов, выращенных на плотной питательной среде. Для выявления генов применяли метод ПЦР. Последовательности используемых праймеров, температура отжига и режим ПЦР описаны ранее в работе [10]. Праймеры синтезированы АО “Синтол” (г. Москва, Россия), ПЦР-продукты визуализировали методом гель-электрофореза в агарозном и полиакриламидном гелях [9].

Результаты ПЦР-анализа исследуемых изолятов базидиальных грибов представлены в таблице.

Табл. 1. Результаты выявления генов лигнолитического комплекса у базидиомицетов

Изолят гриба	ПЦР продукт		
	лакказа (130 п.н.)*	лигнин пероксидаза (207 п.н.)*	марганец пероксидаза (450 п.н.)*
<i>F. fomentarius</i> FF1	–	–	–
<i>F. fomentarius</i> FF2	180 п. н.	110 п. н.	700 п. н.
<i>L. sulphureus</i> LS	–	–	500 п.н., 700 п.н.
<i>P. igniarius</i> PI1	110 п.н.	–	–
<i>L. edodes</i> LE	–	–	–
<i>G. lucidum</i> Reishi	110 п.н.	250 п. н.	500 п.н., 700 п.н.
<i>G. applanatum</i> GA1	–	–	–
<i>H. erinaceus</i> BP16	–	–	–
<i>H. erinaceus</i> 2530	–	–	–
<i>H. erinaceus</i> Pride	–	–	–

Примечание. * – обозначен ожидаемый размер фрагмента для каждого из генов.

Фрагменты всех трех генов лигнолитического комплекса выявлены в двух образцах базидиомицетов: *F. fomentarius* FF2 и *G. lucidum* Reishi. Однако, размер ПЦР-продуктов отличался от ожидаемого, что возможно из-за изменения длины самого белка, увеличения длины генов за счет изменения длины интронов, а также в связи с перемещением рамки считывания в кодирующую часть генома.

Фрагмент гена лакказы выявлен у изолята *P. igniarius* P11. Незначительное отличие размера ПЦР продукта от ожидаемого может быть обусловлено погрешностью определения длины фрагмента. Фрагмент гена марганец пероксидазы выявлен у гриба *L. sulphureus* LS. Отличие длины амплифицированного фрагмента от ожидаемого может быть связано с изменением длины самого белка или увеличением длины гена за счет изменения доли интронов; наличие дополнительного фрагмента длиной 700 п.н., вероятно, связано с наличием криптогена.

Таким образом, среди исследованных культур базидиомицетов наиболее перспективными в отношении изучения лигнолитической активности являются изоляты *F.fomentarius* FF2 и *G. lucidum* Reishi, у каждого из которых выявлены фрагменты генов лакказы, лигнин- и марганецпероксидазы. Полученные данные могут быть использованы в дальнейших исследованиях по выявлению продуцентов ферментов лигнолитического комплекса, сравнительного исследования указанных ферментов, а также их субстратной специфичности. Проверка активности выявленных генов запланирована в дальнейших исследованиях с применением индикаторных сред с гваяколом и танином.

Список литературы

1. Kim S. Mushroom ligninolytic enzymes – features and application of potential enzymes for conversion of lignin into bio-based chemicals and materials // *Applied Sciences*. – 2021. – Т. 11. – №. 13. – С. 6161.
2. de Menezes, T. A., da Rocha Bispo, A. S., Koblitz, M. G. B., de Souza Vandenberghe, L. P., Kamida, H. M., & Goes-Neto, A. Production of basidiomata and ligninolytic enzymes by the lingzhi or reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (agaricomycetes),

in licuri (*Syagrus coronata*) wastes in Brazil // *International Journal of Medicinal Mushrooms*. – 2016. – Т. 18. – №. 12.

3. Болобова А.В., Аскадский А.А., Кондращенко В.И., Рабинович М.Л. Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Ферменты, модели, процессы. – М.: Наука, 2002. – 343 с.
4. BRENDA [Electronic resource]: The Comprehensive Enzyme Information System / Braunschweig Dept. of Bioinformatics. – Braunschweig, [200–] – Electronic date. – Mode of access: <http://www.brenda-enzymes.org> – Title screen
5. Айзенштадт М.А., Боголицын К.Г. Пероксидазное окисление лигнина и его модельных соединений // *Химия растительного сырья*. – 2009. – No2. – С. 5-18.
6. Gold, M.H., Youngs H.L., Gelpke M.D. Manganese peroxidase // *Met. Ions Biol. Syst.* – 2000. – Vol. 37. – P. 559 – 586
7. Branà, M. T., Sergio, L., Haidukowski, M., Logrieco, A. F., & Altomare, C. Degradation of aflatoxin B1 by a sustainable enzymatic extract from spent mushroom substrate of *Pleurotus eryngii* // *Toxins*. – 2020. – Т. 12. – №. 1. – С. 49.
8. Заикина Н.В. Основы биотехнологии высших грибов: учеб. Пособие для студ. обуч. по напр. Биология / Н.В. Заикина. – М.: Проспект науки, 2007. – 336 с.
9. Sambrook J., Fritch T., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. // NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1989. 1626 с.
10. Шевченко Е. А., Бессолицына Е. А., Дармов И. В. Выявление генов, кодирующих лигнолитические ферменты, у природных изолятов базидиомицетов // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2013. – Т. 49. – №. 3. – С. 285-285.

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА ЦЕЛЛЮЛАЗ *IRPEX LACTEUS* ДЛЯ ОСАХАРИВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОТХОДОВ

Чемерис О. В.

Донецкий государственный университет

Одним из эффективных направлений утилизации отходов сельского хозяйства является биоконверсия, которая позволяет уменьшать экологическую нагрузку производств на окружающую среду и получать ценные вещества различного назначения, такие как кормовой и пищевой белок, сахара, спирты, биотопливо, биологически активные соединения и др. [1]. В процессах биоконверсии используют необработанное растительное сырье или сырье, подвергнутое предварительной обработкой различными методами [2], а также с помощью ферментных препаратов [3]. Для эффективной биоконверсии целлюлозы используются ферментные комплексы целлюлаз, полученные с использованием различных грибных штаммов-продуцентов родов *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* [4], *Debaryomyces*, *Guehomyces* [5].

Базидиомицеты являются активными деструкторами целлюлозы. Несмотря на высокий дереворазрушающий потенциал возможность использования базидиомицетов как продуцентов гидролитических ферментных препаратов исследована в меньшей степени. Авторами отмечены высокие показатели ферментативной активности при твердофазном и глубинном культивировании с индукторами синтеза целлюлаз для штаммов *Fomitopsis pinicola* и *Ganoderma lucidum* [6], *IrpeX lacteus* [7], а внеклеточные ксиланазы и целлюлазы

Cerrena unicolor могут быть рекомендованы для использования в качестве добавки для улучшения питательных свойств кормов для сельскохозяйственных животных [8].

Цель работы – получение ферментного препарата целлюлозолитического действия базидиального гриба *IrpeX lacteus*, а также оценка возможности его применения для осахаривания растительного сырья.

Объектом исследования был штамм 2434 базидиального гриба *I. lacteus* из коллекции культур кафедры физиологии растений ДонГУ. Для получения внеклеточных целлюлаз из культуральной жидкости (КЖ) штамм *I. lacteus* 2434 культивировали при 30 °С на питательной среде Чапека (рН 4,5) [9]. В качестве источника углерода использовали лигноцеллюлозный субстрат – измельченные листья початков кукурузы (талаш), который вносили в количестве 2 %.

Выделение ферментного препарата целлюлозолитического действия проводили на 10-й день культивирования продуцента. КЖ штамма пропускали через фильтр Шотта № 3. Лигноцеллюлозный субстрат, который остался после фильтрования, заливали 0,5 М цитратным буфером рН 4,8. Элюацию ферментов целлюлаз с кукурузного талаша проводили в течение 24 ч при температуре 4 °С. Осаждение белков проводили из КЖ и

из элюата путем высаливания сернокислым аммонием при 100 % насыщении. Полученный белок диализировали против дистиллированной воды при температуре +4-5 °С в течение 20 ч. В качестве полупроницаемой мембраны использовали целлофан.

Определение активности ферментов целлюлозолитического комплекса проводили относительно фильтровальной бумаги – общая целлюлозолитическая активность, Na-карбоксиметилцеллюлоза – эндоглюканазная активность, целлобиоза – целлобиазная активность. Состав реакционных смесей для определения целлюлозолитической активности и условия проведения реакций соответствовали общепринятым методикам [10-12]. За единицу целлюлозолитической активности (Ед.) принимали такое количество фермента, которое образовывало 1 μ mol редуцирующих сахаров на протяжении 1 мин в условиях опыта (t=+37 °С). Удельную активность (Ед./мг) определяли отношением общей активности КЖ (Ед./мл) к содержанию белка в КЖ (мг/мл). Содержание редуцирующих сахаров (в глюкозном эквиваленте) определяли методом Шомодьи-Нельсона [9, 11, 13]. Глюкозу определяли глюкозооксидазно-пероксидазным методом с использованием наборов реагентов для определения содержания глюкозы в сыворотке или плазме крови («Глюкоза-Ольвекс», Россия). Содержание белка при исследовании целлюлозолитической активности штамма *I. lacteus* определяли по методу Бредфорда [14].

Оценка возможности использования комплексного ферментного препарата штамма *I. lacteus* 2434 осуществлялась по отношению к следующим растительным отходам – пшеничной соломе и кукурузному талашу методом определения глубины осахаривания при длительной инкубации [9] в течение 72 ч.

В таблице 1 представлены данные активности целлюлаз КЖ и элюата штамма *I. lacteus* 2434. Установлено, что элюат штамма *I. lacteus* 2434 проявлял целлюлозолитическую активность, что подтверждает данные об адсорбции целлюлаз продуцента на субстрате культивирования. КЖ продуцента характеризовалась более высокой эндоглюканазной активностью, а целлобиазная активность находилась на одном уровне с элюатом.

Табл. 1. Целлюлозолитическая активность и содержание белка в культуральной жидкости и элюате штамма *I. lacteus* 2434

Общая целлюлозолитическая активность, Ед/мг	Эндоглюканазная активность, Ед/мг	Целлобиазная активность, Ед/мг	Содержание белка, мг/мл
Культуральная жидкость			
0,18±0,01	95,29±15,30	8,98±1,49	0,01±0,00
Элюат			
0,34±0,07	19,23±5,20	12,75±3,2	0,01±0,00

Установлено, что после 100 % осаждения сульфатом аммония белков КЖ и элюата штамма *I. lacteus* 2434 диализаты обладали целлюлозолитической активностью (табл. 2). Причем активность ферментов диализатов как из КЖ, так и из элюата была выше, чем в первоначальных растворах.

Незначительное повышение активности целлюлаз такого энзиматического препарата можно объяснить тем, что это не просто сумма активностей целлюлаз первого (из КЖ) и второго (из элюата) диализатов. Полученные результаты доказывают взаимодействие компонентов комплекса целлюлаз и влияние на активность друг друга, что и подтверждает сложность их взаимодействий между собой.

Табл. 2. Характеристика водных растворов белков после диализа

Общая целлюлозолитическая активность, Ед/мг	Эндоглюканазная активность, Ед/мг	Целлобиазная активность, Ед/мг	Содержание белка, мг/мл
Культуральная жидкость			
1,03±0,06	117,37±10	22,32±1,96	0,46±0,01
Элюат			
0,49±0,04	35,96±6,4	20,22±3,28	0,05±0,00

Смешивание раствора диализата КЖ с диализатом, полученным после элюации, приводило к образованию ферментного препарата с концентрацией белка 0,44 мг/мл (табл. 3).

Табл. 3. Характеристика ферментного препарата целлюлозолитического действия штамма *I. lacteus* 2434

Общая целлюлозолитическая активность, Ед/мг	Эндоглюканазная активность, Ед/мг	Целлобиазная активность, Ед/мг	Содержание белка, мг/мл
1,34±0,13	125,69±0,17	32,67±2,12	0,44±0,03

Полученный ферментный препарат штамма *I. lacteus* 2434 характеризовался достаточно высокой осахаривающей способностью по отношению к растительным отходам (табл. 4).

Табл. 4. Выход глюкозы из растительного сырья под действием ферментного препарата целлюлозолитического действия штамма *I. lacteus* 2434

Растительный субстрат	Выход глюкозы, г/л
Солома пшеницы	1,79±0,11
Кукурузный талаш	2,14±0,13

Таким образом, штамм *I. lacteus* 2434 является активным продуцентом ферментов целлюлаз, которые могут быть использованы для осахаривания растительных отходов с высоким выходом сахаров.

Исследование проводилось по теме государственного задания (№ госрегистрации 124012400346-5).

Список литературы

1. Шамцян М.М., Колесников Б.А., Клепиков О.В. Касьян А. А. Биотехнологическая переработка отходов сельского хозяйства и пищевой промышленности. Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева). 2011. Т. LV, № 1. С. 17–25.

2. Мансуров О.П., Кемалов А.Ф., Кемалов Р.А. Особенности предварительной обработки отходов обыкновенного тростника с получением ценных продуктов // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского. 2023. № 3(89). С. 56–64.

3. Шубаков А. А., Михайлова Е. А., Мартынов В. В. Био-конверсия целлюлозосодержащего сырья. Ферментативный гидролиз целлюлозы (обзор литературы) // Известия Коми научного центра УрО РАН. 2022. № 4(56). С. 27–38.

4. Синицын А. П., Шашков И. А., Гусаков А. В и др. Био-конверсия возобновляемого растительного сырья в полезные продукты – оптимизация состава целлюлазного ферментного комплекса. Актуальные вопросы биологической физики и химии. 2018. Т. 3, № 1. С. 219 – 224.

5. Ферментативная активность и эффективность синтеза белка дрожжами *Debaryomyces hansenii* и *Guehomyces pullulans* при глубоинной твердофазной ферментации свекловичного жома.

Вестник технологического университета. 2015. Т. 18, № 15. С. 243–248.

6. Литовка Ю. А., Павлов И. Н., Маколова П. В. и др. Биотехнологический потенциал сибирских штаммов базидиальных грибов - продуцентов ферментов лигноцеллюлазного действия. Химия растительного сырья. 2020. № 4. С. 371–383.

7. Чемерис О. В. Целлюлозолитическая активность штаммов *Irpex lacteus* (Fr.) Fr. при жидкофазном культивировании. Проблемы экологии и охраны природы техногенного региона. 2020. № 3-4. С. 108–113.

8. Белова О. В., Лисов А. В., Винокурова Н. Г. Ксиланаза и целлюлаза гриба *Cerrena unicolor* BKM F-3196: получение, свойства, применение для осахаривания растительного сырья Приклад. биохимия и микробиология. 2014. Т. 50, № 2. С. 171–176.

9. Билай В. И. Методы экспериментальной микологии. К.: Наук. думка, 1973. 243 с.

10. Синицын А. П., Гусаков А. В., Черноглазов В. М. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов: уч. пособие. М.: Изд-во МГУ, 1995. 224 с.

11. Синицын А. П., Черноглазов В. М., Гусаков А. В. Методы изучения и свойства целлюлолитических ферментов. Итоги науки и техники. Сер. Биотехнология. 1993. Т. 25. 152 с.

12. Ghose T. K. Measurement of cellulase activity // Pure Appl. Chem. 1987. Vol. 59, N 2. P. 257–268.

13. 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.

14. 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.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ СИБИРСКИХ ШТАММОВ *INONOTUS OBLIQUUS* (FR.) PILÁT

Фомина Н.В.^{1,2}, Литовка Ю.А.^{1,2}, Талуть В.И.², Мосеева М.В.²,

Палей А.С.², Гусева М.А.², Павлов И.Н.^{1,2}

¹Институт леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск

²Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнева, Красноярск

Развитие современной лекарственной фунготерапии направлено на поиск грибов с биологически ценными свойствами и создание эффективных биотехнологий на их основе. Перспективным объектом исследований в этой области является базидиальный гриб *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát, паразитирующий на березе и вызывающий формирование на стволе черного нароста из склероциев и древесины. Водные и спиртовые экстракты чаги широко используются в качестве традиционных лекарственных средств в Азии и Восточной Европе. Спектр биологически активных веществ, синтезируемых *I. obliquus*, исследован, преимущественно, в склероциях, тогда как мицелиальная биомасса, полученная жидкофазным способом, также может быть источником ценных соединений. Одним из препятствий для глубинного культивирования чаги является ее относительно медленный рост *in vitro*, в связи с чем скрининг высокопродуктивных штаммов, подбор и оптимизация условий культивирования, обеспечивающих максимальный прирост биомассы и накопление биологически активных веществ, является актуальной задачей.

Цель исследования – подбор оптимальной питательной среды для накопления биомассы и метаболитов при жидкофазном культивировании и первичный биохимический анализ плодовых тел и мицелия. Объектом исследования служили 24 штамма *I. obliquus* из коллекции лаборатории лесных культур, микологии и фитопатологии Института леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН (Красноярск). Штаммы изолированы в чистую культуру в 2016–2023 годах из склероциев, обнаруженных на стволах *Betula L.* на территории Красноярского края [1]. Все изоляты на 2 % мальт-экстракт агаре формируют медленно растущие колонии, морфологически идентичные виду *I. obliquus*; молекулярно-генетические

исследования также подтвердили принадлежность сибирских изолятов к этому виду.

Состав питательных сред является одним из определяющих факторов, влияющих на продуктивность высших базидиомицетов в глубинной культуре *in vitro*. Продуктивность биомассы исследовали на четырех питательных средах: 1. Глюкозо-пептонная среда (г/л: глюкоза – 30, пептон – 5, дрожжевой экстракт – 2, KH_2PO_4 – 1, MgSO_4 – 0,5); 2. среда Хагема (г/л: солодовый экстракт – 50, NH_4Cl – 5, KH_2PO_4 – 5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 5, сусло – 1 л, 1 % раствор FeCl_3 – 5 мл); 3. картофельно-глюкозная среда (г/л: картофель – 200, глюкоза – 20); 4. картофельно-глюкозная среда + 10 г измельченных березовых опилок [2]. Длительность культивирования составила 14 сут; температура $25 \pm 2^\circ\text{C}$; скорость вращения шейкера Innova 44 150 об/мин. Концентрацию биомассы определяли гравиметрическим методом; содержание белка – по Бредфорду; содержание органических кислот – методом водного экстрагирования с последующим титрованием; общее содержание флавоноидов – методом дифференциальной спектрофотометрии (спектрофотометр Thermo Scientific Genesys 10S VIS) по реакции комплексообразования с хлоридом алюминия; выделение меланина – методом щелочного гидролиза с осаждением соляной кислотой; содержание аскорбиновой кислоты – методом титрования с 2,6-дихлорфенолиндофенолом [3–5]. Биохимические показатели исследованы в склероциях и мицелии, полученном на среде Хагема.

Установлено, что максимальное накопление биомассы всех исследуемых штаммов *I. obliquus* происходит на среде Хагема – 15,1 г/л. На картофельно-глюкозной среде с березовыми опилками выход мицелия был ниже (12,4 г/л), однако внесение опилок позволило увеличить выход биомассы в 4,2 раза по сравнению с исходной

средой, что следует учитывать при дальнейшей оптимизации состава ростовых субстратов.

Общее содержание белка в глубинном мицелии *I. obliquus* всех изученных штаммов и склероциях существенно не отличалось и находилось в пределах 8-10 % и 7-9 % соответственно. Показано более высокое содержание органических кислот в биомассе по сравнению со склероциями – соответственно 1,3 м-экв/100 г и 0,8 м-экв/100 г. Количество аскорбиновой кислоты также оказалось в 1,7 раз выше в биомассе, чем в склероциях – 3,21 и 1,87 мг % соответственно.

Грибные флавоноиды являются вторичными метаболитами с сильной антиоксидантной активностью, которые, наряду с традиционными растительными флавоноидами, могут быть использованы в лечебных и профилактических целях. Значительное накопление фенольных соединений отмечается в плодовых телах высших базидиомицетов, в том числе в склероциях чаги. Однако, получить значительные количества биоактивных фенольных соединений невозможно из-за ограниченности природных ресурсов *I. obliquus*, поэтому альтернативой может стать процесс глубинной ферментации. Показано, что при жидкофазном культивировании содержание флавоноидов в мицелии составляет в среднем 0,65 %, что в 2,8 раза меньше, чем в склероциях. Однако, у некоторых штаммов в жидкой культуре выход флавоноидов был существенно выше (до 1,2 %), что определяет потенциальную возможность их использования при подборе оптимальных условий культивирования для увеличения выхода флавоноидов.

Меланин, получаемый из грибов, безопасен в использовании и экономически выгоден в производстве. В медицинской практике используют различные виды меланинсодержащих грибов и их компоненты, обладающие антиоксидантным, гепатопротекторным и противоопухолевым действием. Установлено, что в склероциях чаги содержание меланиновых пигментов ожидаемо выше и

находится в пределах от 0,43 до 1,12 мг/мл. Количество меланина в мицелии существенно меньше и составляет в среднем 0,10 мг/мл, однако у отдельных штаммов выявлена более высокая продуктивность – до 0,23 мг/мл.

Таким образом, в склероциях *I. obliquus* в большем количестве присутствуют флаваноиды и меланин, тогда как в мицелии – органические кислоты, включая аскорбиновую. Водно-спиртовые экстракты склероциев и биомассы, полученной жидкофазным способом, являются хорошим источником биологически активных веществ, включая меланины, органические кислоты, флаваноиды и витамины, что определяет необходимость дальнейших исследований как по оптимизации условий культивирования чистых культур *in vitro*, так и получению склероций путем искусственной инокуляции древесины.

Список литературы

1. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре. Киев: Наукова думка, 1983. 144 с.
2. Ильина Г.В., Ильин Д.Ю. Ксилотрофные базидиомицеты в чистой культуре: монография. Пенза: РИО ПГСХА, 2013. 222 с.
3. Денисенко Т.А., Вишник А.Б., Цыганок Л.П. Спектрофотометрическое определение суммы фенольных соединений в растительных объектах с использованием хлорида алюминия, 18-молибдодифосфата и реактива Фолина-Чокальтеу с фенольными соединениями. Аналитика и контроль, 2015. - Т. 19. - № 4. - С. 373–380.
4. Физиологические и биохимические методы анализа растений: Практикум / Калинингр. ун-т; Авт.-сост. Г.Н. Чупахина. – Калининград, 2000. – 59 с.
5. Poyedinok N. at all. Effect of light wavelengths and coherence on growth, enzymes activity and melanin accumulation of liquid-cultured *Inonotus obliquus* (Ach. Pers.) Pilat. // Applied biochemistry and biotechnology, 2015. - Vol. 176. - P. 333-334.

ВЛИЯНИЕ *TRICHODERMA ASPERELLUM* НА АКТИВНОСТЬ НИТРАТРЕДУКТАЗЫ И НАКОПЛЕНИЯ NO_3 В ОРГАНАХ СОЯ И ЯЧМЕНЬ В УСЛОВИЯХ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ

Гадимов А.Г.¹, Рагимова С.Н.², Тахирли С.М., Алескерова Ф.Э.¹, Эйвазова Г.З.²

¹Институт Ботаники Министерство науки и образования АР, Баку, Азербайджан

²Азербайджанский Государственный Аграрный Университет, Гянджа, Азербайджан
Бакинский Государственный Университет, Баку, Азербайджан

Аннотация: В работе исследованы накопление NO_3 и нитратредуктазная активность (НРА) в органах 14 дневных растений ячмени и сои выращенных в условиях засоления (50 mM NaCl) при замачивании части их семян в культуральном растворе *Trichoderma asperellum*. Установлено, что обработка семян культуральной средой *Tr. asperellum* в условиях хлоридного засоления заметно и по-разному восстанавливает НРА (у сои в корнях больше, а у ячмени в листьях) и накопления NO_3 (больше в листьях ячменя, а у сои в корнях) в органах обоих растений независимо от видовой принадлежности. Предполагается, что, это различие может быть связано с образованием азотфиксирующих клубеньков на корнях растения сои.

Введение. Улучшение использования земель, непригодных для выращивания является одним из

важнейших способов удовлетворения растущего спроса населения на сельскохозяйственную продукцию в условиях ухудшенной экологической ситуации. Поэтому, в нашей республике, где значительная часть засолена и сталкивается с засухой уделяется большое внимание, научным исследованиям, посвященным этой проблеме. Одним из путей реализации этих проблем является использование микроорганизмов, положительно влияющих на развитие и продуктивность растений в качестве инновационных методов, применяемых в сельском хозяйстве для повышения устойчивости растений к абиотическим и биотическим стрессам. Такой подход является одним из новых и эффективных методов повышения устойчивости растений к изменениям окружающей среды (засуха, высокая температура, засоление и т. д.). Микромицеты триходермы являются

одними из таких микроорганизмов и используются в качестве средств биологической борьбы с грибковыми заболеваниями, а также для снижения негативного влияния засухи и засоления на питание растений, морфофизиологические и биохимические показатели (Woo 2022) Они секретируют соединения различного назначения, растительные гормоны (ауксины, гиббереллины, цитокинины, абсцизовая кислота, этилен), а также различные органические кислоты, внутриклеточные аминокислоты, витамины и большое количество антибиотиков вызывающие местные системные иммунные реакции (Benitez 2004; Нехон 2009). Несмотря на большое количество исследований стимулирующего и защитного действия на различные сельскохозяйственные растения (Dou 2020; Alizadeh, 2024; Bandara 2024), роль триходермы в регуляции активности фермента нитратредуктазы и накопления NO_3 у растений в засоленной среде до конца не изучена.

Поэтому в работе исследована роль триходермы в устранении токсического действия хлоридных солей на активность фермента нитратредуктазы и накопления NO_3 в органах растений, отличающихся степенью солеустойчивости.

Материал и метод. В исследованиях использовали растения ячменя (*Hordeum sativum* L.) и сои (*Glicine hispida* L.). Перед посадкой семена растений замачивали в культуральном растворе *Trichoderma asperellum* (*Tr. asperellum*) в течение 15 часов.

Растения выращивали в лабораторных условиях на питательной среде Кнопа. Интенсивность освещения составляла 4500 люкс, продолжительность светового и темного периодов - 12 часов, температура 23 °С. В экспериментах использовали 14-дневные растения. Схема опыта: 1. Контроль (К); 2. К + *Tr. asperellum*; 3. К+50 мМ NaCl; 4. К+ 50 мМ NaCl + *Tr. asperellum*. Активность фермента нитратредуктазы определяли на спектрофотометре при оптической плотности 448 нм (Дорофеев, Пешкова, 2002), а количество нитратов определяли при оптической плотности 410 нм по реакции на салициловую кислоту (Cataldo et al. др., 1975). Эксперименты проведены в 3-х аналитических и 3-х биологических повторах и обработаны статистически.

Результаты и обсуждение. Одним из важных механизмов адаптации растений к солевому стрессу является регуляция активности ферментов, в том числе фермента нитратредуктазы, играющие ключевую роль в усвоении и метаболизме питательных веществ в засоленной среде. Учитывая, что, синтезируя вещества различного назначения (фитогормоны растительного происхождения и антиоксиданты), *Tr. asperellum* стимулируют рост и развитие растений, повышают их устойчивость к патогенам, изучали их влияние на активность фермента нитратредуктазы и накопление нитратов (NO_3) в органах растений сои и ячменя.

На рисунках 1 и 2 представлены результаты влияния *Tr. asperellum* на активность фермента нитратредуктазы в органах растений ячменя и сои в засоленной среде (50 мМ NaCl). Как видно, в зависимости от вида активность фермента в органах растения совершенно различна, причем активность фермента нитратредуктазы как на уровне всего растения, так и в его органах выше у растение ячменя, чем растение сои (Рис.1 и 2). У обоих растений активность ферментов в листьях значительно выше, чем в других органах. Хотя засоление 50 мМ NaCl оказывало негативное влияние на активность ферментов у обоих растений, оно было более заметно у растений сои. Так, при засолении 50 мМ NaCl актив-

ность фермента нитратредуктазы снижается в листьях на 37,9%, в стеблях 17,5% и корнях 17,3% у ячменя, у растений сои эти показатели равны в листьях 58,4%, у стеблей 41,7% и корней 63,5% соответственно.



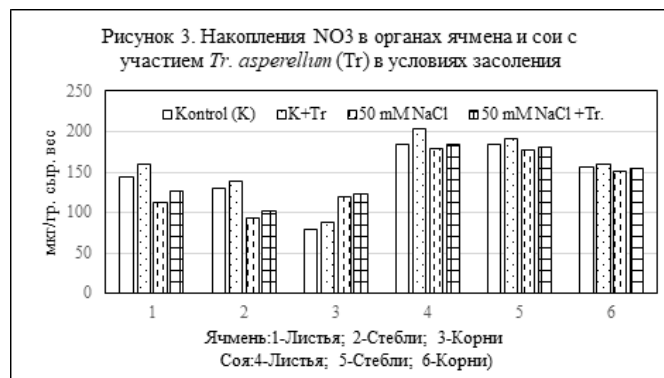
У обоих растений, семена которых обрабатывались культуральным раствором *Tr. asperellum*, активность фермента повышалась во всех органах растений как в обычной, так и в соленой среде. В контрольных растениях триходерма увеличивает активность фермента в листьях растения ячменя на 4,2%, в стеблях на 2,4% и в корнях на 5,6%. А в органах растения сои триходерма в контрольном варианте повышает активность фермента на 10,4% в листьях, на 10,7% в стеблях и на 8,2% в корнях.

В условиях засоления эффективность триходермы более заметна. При солености 50 мМ NaCl активность фермента увеличивается у растения ячменя на 25,4% в листьях, на 9,9% в стеблях и на 11,5% в корнях, у сои на 27,1% в листьях, на 25,0% в стеблях и на 36,8% в корнях.

Анализ накопления нитратов в органах растений показывает, что они различны в зависимости от видовой принадлежности растения (Рис. 3). Как видно, у растения ячменя нитраты больше накапливаются в листьях. Однако у сои они накапливаются примерно в одинаковых количествах в листьях и стеблях растения. У обоих растений корни идут последними по этому показателю. При солености 50 мМ NaCl снижается накопление нитратов во всех органах. Несмотря на снижение содержания нитратов в листьях и стеблях растения ячменя (22,7 и 29,3% соответственно), у его корней он вырос на 47,1%. Однако у сои накопление нитратов в листьях снижается на 3,9%, в стебле-на 4,3%, а в корне-на 3,4%.

Мы наблюдали увеличение накопления нитратов прямо пропорционально активности фермента нитратредуктазы в органах ячменя и сои, семена которых обрабатывались культуральным раствором триходермы в обычной и соленой среде. Триходерма более эффективно влияет на накопление нитратов в растении ячменя. В зависимости от видовой принадлежности растений в обычной и соленой среде влияние триходермы также различно. В листьях и стеблях растения ячменя, семена которого обработаны

триходермой, накапливается больше нитратов, чем в обычной среде (на 3,2% больше в листьях, чем в обычной среде, и на 3,6% больше в стебле), а в корнях они накапливаются больше в обычной среде (на 5,2% больше, чем в соленой). Однако в органах растения сои наблюдаем обратное. В листьях и стеблях растения нитратов накапливается больше в обычной среде (в листьях на 6,0% больше, чем в соленой среде, а в стебле на 2,2% больше), а у корней наоборот в соленой среде (на 1,5% больше, чем в обычной среде).



Анализ полученных нами результатов дает основание говорить о том, что при хлоридном засолении микромицеты триходермы заметно повышают активность фермента нитратредуктазы в органах растений ячменя и сои независимо от видовой принадлежности. У растения сои этот эффект более ярко выражается. У растения ячменя он значительно увеличивается в листьях по сравнению с другими органами, а у сои в корнях. Однако в накоплении нитратов наблюдается обратная тенденция. Участие триходермы в соленой среде приводит к большему накоплению нитратов в листьях ячменя, чем в корнях, а у растения сои, наоборот, к большему накоплению NO_3 в корнях, чем в других органах. Это различие также можно объяснить образованием азотфиксирующих клубеньков на корнях растения сои.

РАБОЧАЯ КОЛЛЕКЦИЯ КУЛЬТУР БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ, КАК ОСНОВА РАЗРАБОТКИ БИОТЕХНОЛОГИЙ

Краснопольская Л.М., Зиангирова М.Ю., Шуктуева М.И., Автономова А.В., Лысакова В.С.
ФГБНУ «НИИНА», Москва

Каждый научный коллектив микологов имеет свою рабочую коллекцию культур, включающую штаммы грибов, используемые в качестве объектов исследований. Задачи рабочих коллекций отличаются от задач коллекций культур типовых, промышленных или биоресурсных коллекций, но в тоже время имеют с ними единую методическую платформу. В настоящем докладе нами обобщены результаты работы с нашей коллекцией культур базидиальных грибов, ведущейся на протяжении более 40 лет.

В течение этого времени менялись наши научные цели и соответственно претерпевала изменения и коллекция штаммов базидиальных грибов. Если вначале научно-исследовательские работы с базидиомицетами были направлены на создание новых и модернизацию уже имеющихся биотехнологий культивирования съедобных грибов и их посевного мицелия, на изучение химической регуляции процессов роста и развития базидиомицетов, то постепенно вектор исследований был смещен в сторону изучения их биосинтетическо-

Список литературы

1. Woo Sh., Hermosa R., Lorito M., Monte E. (2022). Trichoderma: a multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. // Nature Reviews Microbiology. DOI:10.1038/s41579-022-00819-5
2. Benitz T., Rincon AM. Limon M.C., Codon A.C.(2004) Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains. // International microbiology, №7. P.249-260
3. Hexon Angel Contreras-Cornejo, Lourdes Maci as-Rodriguez, Carlos Corte s-Penagos, and Lopez-Bucio. (2009). Trichoderma virens a plant beneficial fungus, enhances biomass productions and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in Arabidopsis 1. // Plant Physiology, Vol.149. P.1579-1592
4. Dou K., Lu Z., Wu Q., et al. (2020). MIST: a multilocus identification system for Trichoderma.// Appl. Environ. Microbiol. 86, 1-13. Doi:10.1128/AEM.01532-20
5. Alizadeh M., Qaderi S., Roshanroo M. et al. (2024). Contouring multifaceted biological activities and applications of Trishoderma spp. for managing plant health.// Journal of Crop Health. DOI: 10.1007/s10343-024-00976-y
6. Bandara A.Y., Kang S. (2024). Trichoderma application methods differentially affect the tomato growth, rhizomicrobiome, and rhizosphere soil suppressiveness against fusarium oxysporum. Sec. Terrestrial Microbiology Vol. 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1366690>
7. Дорофеев Н.В., Пешкова А.А. (2002). Восстановления нитратов в надземных органах редьки масличной. Агрохимия. №9. С.17-21.
8. Cataldo D.A., Harron M, Scharder L.E., Yongs V.L. (1975). Rapid colometric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid.// Commun. Soil Sci. Plant. Anal. V.6. № 1. P. 71-80.

го потенциала, получения и изучения биологически активных метаболитов. Эти изменения направленности исследований оказали серьезное влияние на состав нашей рабочей коллекции, которая вначале аккумулировала только штаммы основных видов съедобных и преимущественно культивируемых базидиомицетов. Коллекция была принципиально расширена за счет включения потенциальных продуцентов метаболитов, биологическая активность которых в каждый конкретный момент отвечала нашим научным целям. Расширение коллекции проходило как за счет увеличения числа видов, так и за счет возрастания количества штаммов каждого вида. Это был важный аспект формирования коллекции, поскольку известно, что биологические свойства имеют видоспецифический характер, а биологическая активность, т.е. количественное выражение изучаемого действия – штаммоспецифический.

На сегодня наша рабочая коллекция включает 185 единиц хранения, подавляющее число культур – это штаммы базидиальных грибов. В коллекции только 12

штаммов аскомицетов. Из всех известных методических приемов, позволяющих сохранять жизнеспособность и комплекс штаммовых признаков культур базидиомицетов, мы отдаем пальму первенства использованию обедненных питательных сред, которые сочетаем с пониженными температурами хранения и ограниченным доступом воздуха. Основное количество коллекционных культур храним при 4 °С. Такой выбор температурного режима связан с тем, каждый цикл опытов по получению биологически активных метаболитов начинается с коллекционной культуры, которую пересеваем на свежеприготовленную полную питательную среду и, таким образом, сокращаем период адаптации культуры к температуре, необходимой для роста. При проведении экспериментов пересевы с полных сред на полные практически исключаем. Пересев коллекционных культур проводим в строго определенный сезон, что необходимо для сохранения биосинтетической активности и физиолого-биохимических характеристик.

Важной задачей любой коллекции является молекулярно-генетическая идентификация культур. Мы используем преимущественно секвенирование по Сэнгеру и идентифицируем культуры в последовательности включения их в научно-исследовательские работы. На сегодня из коллекционных культур идентифицировано немногим более трети. Задачу идентификации всех коллекционных культур вне связи с исследовательской работой не ставим. Так, например, идентификация проведена для всех штаммов вида *Lentinula edodes* и рода *Ganoderma*, но не видов *Hericium erinaceus* и *Fomitopsis betulina*. Штаммы рода *Ganoderma* поступали в коллекцию, как *G. lucidum sensu lato*. Молекулярно-генетическая идентификация показала, что из 10 имеющихся штаммов только один является *G. lucidum sensu stricto*, остальные преимущественно относятся к виду *G. resinaceum* и еще один – к виду *G. curtisii*. Для штамма *G. lucidum sensu stricto* было проведено полногеномное секвенирование, направленное на выявление генов, предположительно кодирующих щелочерастворимый полисахарид ксилломаннан, обладающий высокой противоопухолевой и иммуномодулирующей активностью, доказанной в проводящихся доклинических испытаниях [1, 2].

Коллекционные культуры охарактеризованы по их морфолого-культуральным, микроморфологическим и физиолого-биохимическим характеристикам и свойствам. Серьезное внимание уделено изучению трофических потребностей культур, зависимости их биосинтетической активности от условий культивирования, разработке биотехнологий получения биомассы и/или целевых метаболитов. Так разработанный способ погруженного культивирования штамма *Flammulina velutipes* позволяет получить около 41 г сухой биомассы с литра культуральной жидкости [3]. Совокупность таких исследований позволяет без дополнительных временных и материальных затрат на проведение «базовых» экспериментов переходить от изучения одного типа биологической активности к другому. В результате, выявлены штаммы базидиомицетов, синтезирующие метаболиты с разными биологическими свойствами: противоопухолевыми, иммуномодулирующими, антимикробными, антиоксидантными, а также способные ингибировать биосинтез стеролов [1, 4, 5, 6, 7, 8, 9]. В сотрудничестве с учеными других специальностей на основе использования ранее охарактеризованных коллекционных культур базидиомицетов разработаны сенсорные покрытия для акустических датчиков, препараты для биоремедиации

нефтезагрязненных почв и способы получения сырья для альтернативных топлив [10, 11, 12].

Список литературы

1. Краснопольская Л.М., Ярина М.С., Автономова А.В., Усов А.И., Исакова Е.Б., Бухман В.М. Сравнительное изучение противоопухолевой активности полисахаридов из мицелия *Ganoderma lucidum* в опытах in vivo. // Антибиотики и химиотерапия, 2015. – Т. 60. – № 11-12. – С. 29-34.
2. Sonets, I.V.; Dovidchenko, N.V.; Ulianov, S.V.; Yarina, M.S.; Koshechkin, S.I.; Razin, S.V.; Krasnopol'skaya, L.M.; Tyakht, A.V. Unraveling the Polysaccharide Biosynthesis Potential of *Ganoderma lucidum*: A Chromosome-Level Assembly Using Hi-C Sequencing. *J. Fungi* 2023, 9 (10), 1020.
3. Krasnopol'skaya L., Shukhtueva M., Golyshkin A., Almyasheva N., Yarina M. Optimization of the Nutrient Medium for *Flammulina velutipes* Submerged Biomass Production and Micromorphology of Its Mycelium // *Fermentation*. — 2021. — Vol. 7, no. 3. — P. 180.
4. Альмяшева Н.Р., Ярина М.С., Голышкин А.В., Джавахян Б.Р., Краснопольская Л.М. Антиоксидантные свойства водорастворимых полисахаридов и этанольных экстрактов мицелия ксилотрофных базидиальных грибов. // Антибиотики и химиотерапия, 2017. – Т. 62. – № 7-8. – С. 8-12.
5. Бляхер М.С., Алешкин А.В., Федорова И.М., Рамазанова З.К., Капустин И.В., Котелева С.И., Краснопольская Л.М., Ярина М.С. Влияние ксилломанна, выделенного из *Ganoderma lucidum*, на продукцию цитокинов мононуклеарами периферической крови человека // Цитокины и воспаление, 2017. - Т. 16. - № 1-2. - С. 27-30.
6. Голышкин А. В., Альмяшева Н. Р., Краснопольская Л. М. Компонентный состав базидиом ежевика гребенчатого и их антиоксидантные свойства в зависимости от предобработки опилок сосны и бука // *Лесоведение*, 2021. - № 2. - С. 187–194.
7. Краснопольская Л. М., Шуктуева М.И., Автономова А. В., Ярина М. С., Джавахян Б.Р., Исакова Е. Б., Бухман В. М. Противоопухолевые и антиоксидантные свойства водорастворимых полисахаридов из мицелия базидиального гриба *Flammulina velutipes* // Антибиотики и химиотерапия, 2016. – Т. 61. - № 11-12. – С. 16-20.
8. Лысакова В.С., Барашкова А.С., Рогожин Е.А., Синева О.Н., Краснопольская Л.М. Скрининг метаболитов базидиомицетов и аскомицетов с антифунгальной и антибактериальной активностями. // Современная микология в России. Материалы 5-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии. 2022; 9: 393-394
9. Щегловитова О.Н., Бабаянц А.А., Склянкина Н.Н., Болдырева Н.А., Леонтьева М.И., Автономова А.В., Краснопольская Л.М. Полисахариды из мицелия *Ganoderma lucidum* и *Flammulina velutipes* индуцируют интерферон в культуре лейкоцитов крови человека, но различаются по типу продуцируемого интерферона. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*, 2010. - № 1. Стр. 276.
10. Smirnov A., Anisimkin V., Krasnopol'skaya L., Guliy O., Sinev I., Simakov V., Golyshkin A., Almyasheva N., Ageykin N., Kuznetsova I. Features of the Formation of Sensitive Films Based on Mycelium of Higher Fungi for Surface and Plate Acoustic Waves Gas Sensors // *Sensors* 2023, 23 (4), 2216.
11. Винокуров В.А., Барков А.В., Краснопольская Л.М., Мортиков Е.С. Новые методы получения альтернативных топлив из возобновляемых источников сырья. *Химия и технология топлив и масел*, 2010. - № 2. – С. 9-11.
12. Марченко М.Ю., Барков А.В., Шуктуева М.И., Винокуров В.А., Краснопольская Л.М. Базидиомицеты как перспективный компонент биопрепаратов для ремедиации нефтезагрязнённых почв *Башкирский химический журнал*, 2011. – Т. 18. - № 4. – С. 159-163.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ
ИЗ ПОРЯДКА ПОЛИПОРОВЫХ.

Лысакова В. С., Синева О. Н., Исакова Е. Б., Краснопольская Л. М.
НИИ по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, Москва.

В докладе обсуждены результаты скрининга базидиомицетов – представителей порядка Polyporales, которые известны своими биосинтетическими способностями. Многие представители полипоровых применялись в народной медицине по всему миру, современные научные исследования этих базидиомицетов доказали наличие антимикробных, противовоспалительных, противоопухолевых, антиоксидантных и других свойств их метаболитов [1-3].

Цель работы состояла в исследовании антимикробных свойств экстрактов метаболитов штаммов *Fomes fomentarius* 1, *Fomitopsis betulina* 3, *Fomitopsis pinicola* 1 и 2, *Grifola frondosa* 976, *Laetiporus sulphureus* T3 и T4, *Trametes versicolor* 1, аккумулируемых в культуральной жидкости и погруженной биомассе.

Все штаммы базидиомицетов выращивали сначала на плотной среде КГА, а далее в погруженной культуре, используя посевную и ферментационную среды. Культивирование завершали по достижению накопления максимального количества биомассы. Культуральную жидкость отфильтровывали от биомассы с помощью лавсана, экстрагировали этилацетатом. Биомассу высушивали, измельчали и экстрагировали 97% этиловым спиртом. Экстракт упаривали на ротаторном испарителе.

На первом этапе антимикробную активность экстрактов оценивали с помощью метода диффузии из лунок в агар на широкой панели тест-культур, включающей грамположительные и грамотрицательные бактерии (*Micrococcus luteus* (ATCC 9341), *Staphylococcus aureus* (INA 00985), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)), дрожжеподобный и мицелиальные грибы (*Candida albicans* (ATCC 14053), *Fusarium oxysporum* (ВКПМ F-890), *Aspergillus niger* (ATCC 16404)). В лунки вносили по 100 µл разведенного в 25% спирте экстракта.

На втором этапе для активных экстрактов методом серийных разведений определяли минимальную подавляющую концентрацию (МПК) в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий (*S. aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (533), *Staphylococcus haemolyticus* (585), *Enterococcus faecium* (569), *Acinetobacter baumannii* (5696), *Escherichia coli* (ATCC 25922) *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Salmonella choleraesuis* (ATCC 14028), *Proteus vulgaris* (ATCC 13315)). Для этих опытов экстракты разводили в 5% ДМСО.

Высокая антибактериальная активность этилацетатных экстрактов культуральной жидкости была отмечена у *F. fomentarius* 1, *F. betulina* 3, *F. pinicola* 2, *L. sulphureus* T3 и T4, зоны подавления роста грамположительных (*S. aureus*, *B. subtilis*, *M. luteus*) и грамотрицательной (*P. aeruginosa*) бактерий составили 20+ мм. Штаммы *F. betulina* и *L. sulphureus* T3 продемонстрировали слабую антифунгальную активность в отношении *Fusarium oxysporum* (зона ингибирования роста 12+), также *L. sulphureus* T3 слабо ингибировал рост *A. niger*. Экстракты культуральной жидкости *G. frondosa* 976 и *T. versicolor* 1 показали слабую активность в отношении грамположительных бактерий (*S. aureus*, *M. luteus*), экстракт *F. pinicola* 1 – среднюю активность (зона ингибирования роста 14 мм) в отношении *S. aureus*.

Этанольные экстракты биомассы *F. pinicola* 1 и 2, *L. sulphureus* T3 и T4, *G. frondosa* 976 и *T. versicolor* 1 не проявили антимикробной активностью. Экстракты биомассы *F. fomentarius* 1, *F. betulina* 3 показали активность в отношении грамположительных бактерий с зонами подавления 12-17 мм. Полученные в настоящей работе подтвердили ранее полученные [4], что экстракты культуральной жидкости в большинстве случаев активнее экстрактов мицелия. Однако это не исключает необходимости проверки антимикробных свойств экстрактов биомассы.

МПК была определена для экстрактов культуральной жидкости *F. fomentarius* 1, *F. betulina* 3, *F. pinicola* 1 и 2, *L. sulphureus* T3 и T4. Результаты представлены в таблицах 1 и 2. Наименьшее значение МПК 320 мкг/мл было отмечено у экстракта *F. pinicola* 1 в отношении *K. pneumoniae*, *L. sulphureus* T4 продемонстрировал такие же значения в отношении *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, а *L. sulphureus* T3 – *S. aureus* и *S. haemolyticus*. МПК экстракта *F. betulina* составила 640 мкг/мл в отношении всех культур кроме *A. baumannii*. Экстракт *F. pinicola* 2 показал такие же значения для всех культур кроме *S. choleraesuis*, *P. vulgaris*. Большинство экстрактов были активнее в отношении грамположительных бактерий, что сопоставимо с результатами опыта определения зон подавления роста на плотных средах.

Табл. 1. МПК экстрактов культуральной жидкости базидиомицетов в отношении грамположительных бактерий.

Базидиомицет	МПК, µг/мл			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>E. faecium</i>
<i>Fomes fomentarius</i> 1	>1280	640	640	1280
<i>Fomitopsis betulina</i> 3	640	640	640	1280
<i>Fomitopsis pinicola</i> 1	>1280	>1280	640	>1280
<i>Fomitopsis pinicola</i> 2	640	640	640	1280
<i>Laetiporus sulphureus</i> T3	320	640	320	640
<i>Laetiporus sulphureus</i> T4	320	320	320	640

Табл. 2. МПК экстрактов культуральной жидкости базидиомицетов в отношении грамотрицательных бактерий.

Базидиомицет	МПК, µг/мл				
	<i>A. baumannii</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. choleraesuis</i>	<i>P. vulgaris</i>
<i>Fomes fomentarius</i> 1	640	640	>1280	>1280	>1280
<i>Fomitopsis betulina</i> 3	640	640	640	640	1280
<i>Fomitopsis pinicola</i> 1	640	>1280	320	>1280	>1280
<i>Fomitopsis pinicola</i> 2	640	640	640	>1280	1280
<i>Laetiporus sulphureus</i> T3	1280	1280	1280	>1280	1280
<i>Laetiporus sulphureus</i> T4	640	1280	1280	1280	640

Было установлено, что все изученные штаммы базидиомицетов порядка полипоровых обладают антимикробными свойствами. Экстракты культуральной жидкости *L. sulphureus* T3 и T4, *F. pinicola* 2 и *F. betulina*

3 обладали высокой активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий. Экстракты культуральной жидкости *F. pinicola* 1, *G. frondosa* 976 и *T. versicolor* 1 не показали ярко выраженной антимикробной активности. При этом экстракты культуральной жидкости были более активны, чем экстракты погруженной биомассы. Полученные результаты в дальнейшем будут использованы при выделении и идентификации или установлению структур активных индивидуальных компонентов экстрактов.

Список литературы

1. Anusiya G., Gowthama Prabu U., Yamini N. V., et. al. A review of the therapeutic and biological effects of edible and wild mushrooms. // Bioengineered, 2021, Vol. 12, No. 2, P. 11239-11268.
2. Tai S. H., Kuo P. C., Hung C. C., et. al. Bioassay-guided purification of sesquiterpenoids from the fruiting bodies of *Fomitopsis pinicola* and their anti-inflammatory activity. // RSC advances, 2019, Vol. 9, No. 59, P. 34184-34195.
3. Quintero-Cabello K. P., Lugo-Flores M. A., Rivera-Palafox P., et. al. Antioxidant properties and industrial uses of edible polyporales. // Journal of Fungi, 2021, Vol. 7, No. 3, P. 196.
4. Лысакова В.С., Барашкова А.С., Рогожин Е.А., Синева О.Н., Краснопольская Л.М. Скрининг метаболитов базидиомицетов и аскомицетов с антифунгальной и антибактериальной активностями. // Современная микология в России. Материалы 5-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии. 2022; 9: 393-394

СЕЗОННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ СЪЕДОБНЫХ ГРИБОВ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

Михалева Л.Г.
ИБПК СО РАН, Якутск

Ценным недревесным ресурсом якутских лесов являются грибы. Всего в Якутии в настоящее время насчитывается более 900 видов микро- и макромицетов. Микобиота Центральной Якутии наиболее изучена. Изучением съедобных грибов в этом регионе занимались И.А. Петренко (1978), Л.С. Лапицкая (1986), Л.Г. Михалева (Mikhaleva, 2009) и др. Не менее 80 представителей микобиоты Якутии являются съедобными грибами, хотя местное население заготавливает не более 10 видов из них, в том числе это *Suillus luteus*, *Suillus grevillea*, *Suillus variegatus*, *Leccinum scabrum*, *Leccinum aurantiacum*, *Lactarius aquizonatus*, *Lactarius deliciosus*, *Boletus edulis*.

Сбор грибов проводился в период с 2017 по 2023 гг. в Центральной Якутии в пригородных лесах г. Якутска полустационарным методом, даты фиксировались по фототграфиям. Учет продуктивности пищевых ресурсов грибов проводился, как правило, маршрутным методом на ленточных площадках длиной 500 м и шириной 1 м в различных типах растительности в 3-х кратной повторности. Взвешивался отдельно каждый вид. Определение видов проводилось в ИБПК СО РАН.

Климат и фенология грибов.

Сезонная продуктивность грибов зависит, конечно же, от погодных условий конкретного года, прежде всего от количества осадков и температурного режима вегетационного периода, но в последние три десятилетия происходит изменение климатических условий (табл.1; 2), что, вероятно, отражается на сезонной динамике появления плодовых тел агариковых грибов.

Изменение климата в арктической зоне, в том числе в Якутии, становится в последнее время заметным явлением и проявляется, прежде всего, в удлинении осенних и весенних сезонов; в быстром наступлении весны; увеличении роста межсезонных температур; увеличении роста активного слоя почв (сезонно-талого слоя). Изменилось среднегодовое количество осадков – в континентальной части в целом увеличилось, в приморской части – уменьшилось (Гаврилова, 2007).

Таким образом, за холодный период температура увеличилась более, чем на 3°C, за теплый – на 0.8°C.

Годовое количество осадков в Якутске с поправками на смачивание и ветровой недоучет составляет в среднем 234 мм. Распределение осадков во времени неравномерно. Их основное количество (около 162 мм) выпадает с мая по сентябрь. В теплый период года в Якутске осадки выпадают неравномерно. Периоды с дождями чередуются с бездождными периодами (более 10 дней без осадков), которые нередко имеют продолжительность месяц и более Гаврилова, 2007; Кириллина, 2013). В среднем в Якутске за период с мая по сентябрь бывает три-четыре бездождных периода различной продолжительности. Средняя продолжительность бездождных периодов 24 дня, а максимальная 92 (с 20 мая по 19 августа 1948 г.). Наиболее часто бездождные периоды имеют продолжительность 10—20 дней, их повторяемость составляет около 50%.

Вегетационный период в Якутии начинается после прохождения ледохода. По сравнению со средними датами в 20 веке, ледоход на р. Лене в районе Якутска проходит раньше примерно на 7-10 дней, если в XX веке Лена очищалась ото льда в среднем 24-26 мая, в последнее время даты ледохода, соответственно и начало теплого периода, сместились в среднем на 16-18 мая.

Центральная Якутия – наиболее засушливый регион. Лимитирующим факторам для развития растений здесь является, прежде всего, малое количество осадков (табл.2) и большое количество бездождных периодов в теплое время года. В какой-то степени обеспеченность почвы влагой происходит за счет таяния снега в ранне-весенний период и оттаивания многолетней мерзлоты в теплое время года. В связи с более ранним наступлением весны и с увеличением температуры воздуха, раньше образуются благоприятные условия для роста и плодоношения почвенных грибов.

Влагу, достаточную для роста и развития грибов, обеспечивает в начале вегетационного периода сезон-

ное таяние мерзлоты, а в августе-сентябре, когда суточная амплитуда становится значительной – обильные росы и туманы.

Летние температуры в июле могут превышать +35⁰C. 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 (*Leccinium scabrum*) – 196 кг/га (в лиственничнике). Общая биомасса грибов более 640 кг/га на маршрутах (Петренко, 1978).

Наиболее продуктивны в отношении запасов грибов сосняки, широко распространенные в среднем течении р. Лены, березняки и смешанные леса, развивающиеся на сегких песчаных и супесчаных почвах, а также лиственничники и лиственничные вырубki на водоразделе. Урожайность агарикоидных грибов зависит также от возраста лесной формации, и от температурно-влажностного режима 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).

Микофенотические исследования, проведенные ранее, выявили, что в Якутии имеется только один грибной слой (сезон) – позднелетний (Петренко, 1978). Первые единичные грибы появляются в конце первой декады июля. Массовый урожай же отмечается в основном в августе. Максимум урожайности приходится на вторую половину августа – начало сентября. Однако в последние три десятилетия отмечено, что агарикоидные макромицеты нередко стали иметь два слоя плодоношения (табл.3). Первый урожай грибов приходится на вторую половину июня – первую декаду июля. Как правило, этот слой не очень урожайный. В июне единично можно найти масленок настоящий (сосновый), подосиновики, в большем количестве могут появляться плодовые тела подберезовиков.

Влагу, достаточную для роста и развития грибов, обеспечивает в начале вегетационного периода сезонное таяние мерзлоты, а в августе-сентябре, когда суточная амплитуда становится значительной – обильные росы и туманы.

Табл. 1. Средняя температура воздуха по сезонам по данным метеостанции Якутск

Период	T _{гол}	T ₆₋₈	T ₃₋₅	T ₉₋₁	T ₁₂₋₂	Изменение T ₁	Изменение T ₇
с 1966 г.	-10.3	16.3	-6.8	-10.8	-39.7	5.1	0.6
1977-2013	-8.1	17.2	-5.4	-9.5	-36.3		
Тренд	2.2	0.9	1.4	1.3	3.4		

Табл. 2. Осадки за период 1961-2010 г.г. (Якутск)

Период наблюдений					
Годы	1961-70	1971-80	1981-90	1991-00	2001-2010
Кол-во, мм	241.8	236.0	241.0	231.6	234.4

Табл. 3. Даты появления плодовых тел основных ресурсных видов грибов в 2017-2023 г.г.

Вид	Год	Начало плодоношения	Массовое появление, лето	Массовое появление, осень	Окончание плодоношения
Leccinum scabrum	2017	19 июня	3-28 июля	5 сентября	11 сентября
	2018	30 июня	11 июля	3-4 августа	9 сентября
	2019	29 июня	7 июля	20 июля-12 августа	30 августа
	2020	18 июня	7-8 июля	28 июля-12 августа	3 сентября
	2021	19 июня	21 июля-7 августа	29 августа-3 сентября	3 сентября
	2022	25 июня	1 июля	17 июля; 22-23 июля	10 сентября
	2023	23 июня	6-14 июля	26-27 августа	13 сентября
Leccinum aurantiacum	2017	3 июля	22-29 июля	25 августа-5 сентября	11 сентября
	2018	11 июля	3-4 августа	21 августа	9 сентября
	2019	7 июля	20 июля	12 августа	30 августа
	2020	1-2 июля	7-14 июля	28 июля-12 августа	19 августа
	2021	21 июля	-	-	7 июля
	2022	25 июня	1-12 июля	17-23 июля	10 сентября
	2023	5 июля	14 июля	26 июля-1 августа	13 сентября
Boletus edulis	2017	23 июля	-	-	25 августа
	2018	-	-	21 августа	-
	2019	-	20 июля	30 августа-5сентября	-
	2020	18 июня	-	-	7 июля
	2021	19 июля	21 июля	3 сентября	10 сентября
	2022	15 июля	22-25 июля	-	-
	2023	14 июля	29 июля-4 августа	26 августа	-
Suillus luteus	2017	-	27-29 июля	5-11 сентября	13 сентября
	2018	4 августа	-	21 августа	9 сентября
	2019	20 июля	-	31 августа-5 сентября	19 сентября
	2020	18 июня	-	-	3 сентября
	2021	18 июля	21 июля	3 -20 сентября	25 сентября
	2022	-	23 августа	10 сентября	20 сентября
	2023	22 июля	27 августа	13 сентября	17 сентября

Для появления первых плодовых тел грибов в конце июня – в начале июля и первым слоем плодоношения в июле количество атмосферных осадков не играет решающего значения. Более значимым фактором является ранний прогрев верхнего слоя почвы, что связано с таянием многолетнемерзлого слоя мерзлоты и насыщение почвы влагой. Этим же фактором по-видимому, можно объяснить значительную урожайность в последние годы *Boletus edulis*, который еще в 70-е годы XX века не был известен в Якутии или встречался очень редко.

Осенний слой урожайности грибов, в отличие от раннелетнего, сильно зависит от количества летних осадков и, особенно, бездождных периодов в теплое время года (в июле). Частично недостаток влаги во второй половине августа – в сентябре, когда суточная амплитуда становится значительной компенсируется – обильными росами и туманами. Также на урожай грибов сильно влияет температура почвы – ее приземного слоя и на глубине 5-10 см.

Работа выполнена в рамках проекта Растительный покров криолитозоны таежной Якутии: биоразнообразие, средообразующие функции, охрана и рациональное использование (код научной темы: FWRS-2021-0023; номер гос. регистрации в ЕГИСУ: AAAA-A21-121012190038-0

Список литературы

1. Петренко И.А. Макро- и микромицеты лесов Якутии. Новосибирск, Наука. 1978. 133 с.
2. Лапицкая Л.С. Изучение съедобных грибов в лесах Сибири // Почвы и лес: Тез. Докл. XI Всесоюз. симпозиума «Биологич. Проблемы Севера». Якутск, 1986.
3. Mikhaleva L.G. Mycobiota of CentrFai Yakutia // Proceedings of 4th International WS on C/H₂O/Energy balance and climate over regions with special emphasis on Eastern Eurasia. 14-16 July, 2008. Nagoya, 2009. P. 71-73.
4. Гаврилова М.К. Изучение климата в районах «вечной мерзлоты» на протяжении XX века в России. Влияние климатических и экологических изменений на мерзлотные экосистемы // Труды 3 междунар. конф. «Роль мерзлот. экосистем в глобальном изменении климата». - Якутск, 2007. - С. 9-15
5. Кириллина К.С. Современные тенденции изменения климата Республики Саха (Якутия) // Ученые записки Российского Государственного Гидрометеорологического Университета. №30, 2013. С. 69-77

МИЦЕЛИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОДУЦЕНТЫ ОКИСЛЯЮЩИХ ЛАКТАТ ФЕРМЕНТОВ

Семашко Т.В., Жуковская Л.А., Василевская М.Е.
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

Ферменты, окисляющие лактат, широко используются в фармацевтической, пищевой и винодельческой промышленности. Также фермент применяется в медицинской диагностике и биосенсорных технологиях для анализа содержания L-лактата в крови и других жидкостях организма человека при различных патологических состояниях. Уровень молочной кислоты – это важный клинико-диагностический показатель гипоксии, лактоацидоза, шокового состояния, острого инфаркта миокарда, пневмонии, эпилепсии, диабета и других заболеваний, связанных с нарушением снабжения кислородом органов и тканей [1].

Лактатооксилирующие ферменты разделяют на две группы – лактатооксидазы и лактатдегидрогеназы.

Лактатооксидазы – глобулярные флавопротеины, к которым относятся гликолатоксидаза (оксидаза (S)-2-гидроксикислот, КФ 1.1.3.15), L-лактатооксидаза (КФ 1.1.3.2) и лактат-2-монооксигеназа (ЛМО, КФ 1.13.12.4).

Гликолатоксидаза принадлежит семейству (L)-2-гидроксикислот-оксидаз ((L)-2-НАОХ) и катализирует окисление L-молочной кислоты до пировиноградной кислоты с одновременной продукцией пероксида водорода [2, 3]. L-лактатооксидаза окисляет лактат кислородом воздуха, с восстановлением кислорода до пероксида водорода [4]. Лактат-2-монооксигеназа окисляет лактат с образованием ацетата, диоксида углерода и воды [5].

Лактатдегидрогеназы (ЛДГ) – ферменты углеводного обмена, катализирующие реакцию взаимопревращения лактата и пирувата, протекающую совместно с восстановлением НАД⁺ и окислением НАДН соответственно [6].

L-лактатдегидрогеназа (КФ 1.1.1.27) цинксодержащий фермент, обратимо катализирующий окисление

L-лактата в пируват [6, 7]. D-лактатдегидрогеназа (КФ 1.1.1.28) фермент, катализирующий превращение пировиноградной в молочную кислоту [7].

Согласно литературным данным основными известными продуцентами лактатооксилирующих ферментов являются бактерии родов *Streptomyces*, *Rhodococcus*, *Lactobacillus*, *Sporolactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* [4-7]. Данные о продукции лактатооксилирующих ферментов грибами штаммами не многочисленны [1, 8].

Цель исследования – проанализировать способность к синтезу лактатооксилирующих ферментов мицелиальными грибами.

Объектами исследования являлись грибы родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Phlebia*, хранящиеся в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов Государственного научного учреждения «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси», которые, согласно литературным данным, способны к синтезу лактатооксилирующих ферментов, а также изоляты грибов, выросшие на сырах, твороге, и выделенные из кислого в комнатных условиях молока.

Культивирование грибов проводили на сусло-агаре и агаризованной среде Чапека в чашках Петри при температуре 28 °С в течение 72 ч. Глубинное культивирование осуществляли в 50 мл питательной среды Чапека с добавлением молочной кислоты (рН 3,5) на качалке (180 об/мин) при комнатной температуре в течение 120 ч.

Проверку способности отобранных штаммов и изолятов синтезировать лактатооксилирующие ферменты осуществляли следующим образом. Тест-полоски (фильтровальную бумагу с нанесенным индикаторным раствором, содержащим 1 мг пероксидазы (40 ед/мл по пирогаллолу), 40 мкл 85 % молочной кислоты, 8 мг

о-дианизидина дигидрохлорида), помещали на изолированные колонии. О наличии активности судили по изменению окраски фильтровальной бумаги.

Наличие внутриклеточных лактатоксидаз проверяли после разрушения клеток ультразвуком (300 секунд при частоте 30 кГц и мощности 210 Вт/дм³). Полученный лизат (50 мкл) переносили на тест-полоски с раствором для проверки активности лактатооксилирующих ферментов вышеуказанного состава. О наличии активности также судили по изменению окраски.

Проверка лактатоксидазной активности 29 грибных культур, представленных *Penicillium* (16), *Aspergillus* (8), *Phlebia* (5), а также изолятов, выделенных из сыров и скисшего молока показала различную интенсивность окраски вокруг растущих колоний грибов. Так, чашки с *P. lilacinum*, *P. funiculosum*, *P. chrysogenum*, *P. kapuscinski* T49, *A. alliaceus*, *Ph. radiata*, а также чашки с изолятами грибов из скисшего молока, сыра и творога, через 72 ч приобретали темно-красную окраску, что с высокой долей вероятности свидетельствовало о синтезе лактатоксидаз или лактатдегидрогеназ отмеченными грибами. Интересно, что у изолята ХЗ, выделенного из творога, окрашивание среды появилось уже через 24 ч культивирования. Наиболее интенсивное изменение окраски среды наблюдали на чашках с *P. kapuscinski* T49, *P. lilacinum* и ХЗ, что являлось следствием реакции окисления лактата с участием синтезируемого грибами фермента – лактатоксидазы. Полученные данные позволяют отнести отобранные штаммы к наиболее вероятным потенциальным продуцентам лактатоксидаз.

При микроскопировании изолята ХЗ, определили особенности морфологии его клеток и по выявленным морфологическим признакам отнесли его к роду *Costantinella* sp [9].

Таким образом, в результате работы подобраны условия проведения качественной реакции для выявления лактатооксилирующих ферментов у мицелиальных грибов, благодаря чему можно быстро и точно определять способность микроорганизмов синтезировать данные ферменты. В качестве потенциальных продуцентов лактатооксилирующих ферментов были отобраны *P. lilacinum*, *P. kapuscinski* T49, *Costantinella* sp.

Список литературы:

1. Biryukova E.N., Arinbasarova A.Y., Medentsev A.G. Synthesis of L-Lactate oxidase in yeast *Yarrowia lipolytica* during submerged cultivation. *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2017. – Vol. 53, № 2. – P. 217–221.
2. Yang J. Biosynthesis of poly (2-hydroxyisovalerate-co-lactate) by metabolically engineered *Escherichia coli*. *Biotechnology Journal*. – 2016. – Vol. 11. – P. 1572–1585.
3. Leiros I. A structure of *Aerococcus viridans* L-lactate oxidase (LOX) / I. Leiros [et al.] // *Structural Biology and Crystallization Communications*. – 2006. – P. 1185–1190.
4. Бирюкова Е.Н. и соавт. *Yarrowia lipolytica* – продуцент L- лактатоксидазы *Микробиология*. – 2009. – Т. 78, № 5. – С. –716–718.
5. Massey V. Lactate Monooxygenase I. Expression of the mycobacterial gene in *Escherichia coli* and mutagenesis of lysine 266 / // *Journal of Biochemical Chemistry*. – 2002. – Vol. 269. – P. 7982–7988.
6. David A. et al. L-Lactate 2-Monooxygenase from *Mycobacterium smegmatis*. *Journal of Biochemical. Chemistry*. – 2000. – Vol. 265. – P. 626–6632.
7. Куплетская М. Б. Поиск микроорганизмов – продуцентов лактатоксидазы *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2007. – Т. 43, № 2. – С. 199–202.
8. Sztajer, H. Purification and some properties of a novel microbial lactate oxidase. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 1996. – Vol. 45. – P. 600–606.
9. Семашко Т.В., Василевская М.Е., Жуковская Л. А., Фридлендер И. Я., Лобанок А. Г. «Скрининг штаммов микроорганизмов – продуцентов лактатоксидаз» // *Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: Сборник научных трудов*. – Минск: Беларуская навука, 2023. – Т. 15. – С. 135–146.

КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА И БИОСИНТЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ШТАММОВ КСИЛОТРОФНОГО БАЗИДИОМИЦЕТА *SARCODONTIA SETOSA* ИЗ КОЛЛЕКЦИИ LE-BIN

Шахова Н. В., Волобуев С. В.

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

Ксилотрофные базидиомицеты колонизируют живую и отмершую древесину и имеют тесные отношения со своими растениями-хозяевами. Деревообитающие макромицеты производят ферменты, вторичные метаболиты и другие биологически активные соединения, которые позволяют данной группе грибов, с одной стороны, выживать в конкурентных средах обитания с другими микроорганизмами, и, с другой стороны, разлагать стойкие растительные полимеры древесины, участвуя в глобальном углеродном цикле. Получение новых биоактивных молекул, продуцируемых этими грибами, до сих пор привлекает внимание исследователей. Химическое и функциональное разнообразие органических веществ вторичного метаболизма и веществ белковой природы, выделенных из базидиомицетов открывает широкий

спектр их применения в промышленности, медицине, сельском хозяйстве, и окружающей среде (Peralta et al., 2017). Таким образом, исследования базидиальных макромицетов могут помочь открыть новые биомолекулы для использования в различных прикладных целях. Сохранение деревообитающих базидиомицетов *ex situ* не только играет важную роль в защите генетического и биологического материала видов и штаммов грибов, но и рассматривается как многообещающий источник продуцентов биоактивных соединений, интенсификация синтетической активности которых может быть достигнута за счет изменения условий культивирования (Psurtseva et al., 2023). Изменения параметров культивирования штаммов (например, состава среды, температуры, pH, и т. д.) могут влиять на метаболомный про-

филь базидиальных грибов (Argyropoulos et al., 2022). Совместное культивирование также признано эффективной стратегией не только для изучения биосинтетического потенциала у деревообитающих грибов, но и для понимания их адаптивного потенциала, поскольку исследователи получают возможность моделировать встречающуюся в природе конкуренцию у двух или даже более организмов в стандартных лабораторных условиях роста (Hiscox et al., 2018; Sperandio, Filho, 2019).

Цель работы состояла в комплексном изучении культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств *Sarcodontia setosa* (Pers.) Donk (*Polyporales*, *Agaricomycetes*) – ксилотрофного базидиомицета с фитопатогенной активностью. Современные исследования позволили выявить у данного вида два новых химических соединения (производные саркодонциевой кислоты) и определить антибактериальную активность бензохиноновых пигментов *S. setosa* (саркодонциевой и дигидросаркодонциевой кислот) в отношении штаммов бактерий группы ESKAPE *in vitro* (Whaley et al., 2023).

В условиях чистой культуры были изучены девять дикариотических штаммов *S. setosa*, выделенных из базидиом, растущих на *Malus domestica* на территории Среднерусской возвышенности, и хранящихся в Коллекции культур базидиомицетов БИН РАН (LE-BIN). Получены новые сведения о макро- и микроморфологических характеристиках чистых культур *S. setosa* (Shakhova, Volobuev, 2020). Определены максимальная скорость роста мицелия штаммов *S. setosa* на агаризованных средах различного состава (Volobuev, Shakhova, 2020) и проведена оценка их окислительной и целлюлитической активностей. По результатам скрининговых исследований был отобран штамм LE-BIN 2138, и рассмотрены вопросы биологии и экологии вида *S. setosa* на примере данного штамма, а именно, изучена его способность к антагонизму по отношению к другим видам ксилотрофных базидиомицетов, также развивающихся на живых яблонях. Установлено, что штамм LE-BIN 2138 *S. setosa* оказался умеренным антагонистом, не способным к подавлению потенциально конкурентных видов ксилотрофных базидиомицетов (*Pappia fissilis* и *Trametes hirsuta*), однако более агрессивным к имеющему сходную субстратную приуроченность конкурентному виду *Phellinus potaceus* (Шахова, Волобуев, 2020).

Исследования выполнены по теме государственного задания БИН РАН №12401310-0829-3 «Таксономическое, экологическое и структурно-функциональное разнообразие грибов и грибообразных протистов».

Список литературы

1. Peralta R.M., da Silva B.P., Còrrea R.C.G., Kato C.G., Seixas F.A.V., Bracht A. Enzymes from basidiomycetes – peculiar and efficient tools for biotechnology. *Biotechnology of microbial enzymes*. Academic Press. 2017. Chapter 5: 119-149. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803725-6.00005-4>
2. Psurtseva N.V., Kiyashko A.A., Senik S.V., Shakhova N.V., Belova N.V. The conservation and study of macromycetes in the komarov botanical institute basidiomycetes culture collection – their taxonomical diversity and biotechnological prospects. *J. Fungi*. 2023. 9: 1196. <https://doi.org/10.3390/jof9121196>
3. Argyropoulos D., Psallida C., Sitareniou P., Flemetakis E., Diamantopoulou P. Biochemical evaluation of agaricus and pleurotus strains in batch cultures for production optimization of valuable metabolites. *Microorganisms*. 2022. 10(5): 964. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050964>
4. Hiscox J., O'Leary J., Boddy L. Fungus wars: basidiomycete battles in wood decay. *Studies in mycology*. 2018. 89: 117–124. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.02.003>
5. Sperandio G.B., Filho E.X.F. Fungal co-cultures in the lignocellulosic biorefinery context: A review. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2019. 142: 109–123. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.05.014>
6. 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*. 2020. 54(6): 446–451. <https://doi.org/10.31857/S0026364820060100>
7. 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>
8. Whaley A.K., Ponkratova A.O., Orlova A.A. et al. New benzoquinone pigments from the hydroid fungus *Sarcodontia setosa* and their biosynthetic relationship. *Natural Product Research*. 2023. <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2195176>
9. Шахова Н.В., Волобуев С.В. Особенности межвидовых взаимоотношений *Sarcodontia crocea* и потенциально конкурентных ксилотрофных фитопатогенных грибов в условиях чистой культуры. *Современная микология в России*. 2020. 8: 290–293.

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ РТУТИ И МЫШЬЯКА В *AGARICUS CAMPESTRIS*, ВЫРАЩЕННЫХ НА МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ

Шевченко С. Е., Базаркин А.Ю.

ВНИИ технологии консервирования — филиал ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН (ВНИИТЭК), Видное

Вопрос содержания тяжелых металлов, особенно ртути, в пищевой продукции, в настоящее время особенно актуален, поскольку ряд продуктов, например, рыба, морепродукты, БАДы, какао-продукты, грибы, могут содержать данный элемент в значительном количестве. Предельно допустимые концентрации (ПДК) по этим продуктам тоже максимальны по сравнению с ПДК других видов пищевой продукции согласно ТР ТС

021/2011. Регулярное и ежедневное попадание в организм ртути, даже в малых дозах, приводит к микромеркуриализму, снижению иммунитета населения и развитию хронических заболеваний. Поэтому, крайне важно проводить систематический мониторинг содержания этого элемента в пищевой продукции, поступающей на прилавки магазинов. Работа является продолжением цикла исследований по изучению содержания тяжёлых

металлов в грибах. Цель данной работы заключалась в оценке концентраций ртути и мышьяка в *Agaricus campestris*, выращенных на разных модельных системах (МС). В связи с этим, поставлены задачи: провести пробную культивацию Шампиньона обыкновенного (*Agaricus campestris*) в контролируемых лабораторных условиях на шести МС; определить содержание ртути и мышьяка в выращенных грибах и оценить возможный переход малых количеств этих элементов из субстрата в тело гриба; сравнить полученные данные с ПДК и результатами предыдущих исследований.

Результаты мониторинга содержания ртути и мышьяка в культивируемых и дикорастущих грибах показали, что уровень ртути в свежих культивируемых шампиньонах и вёшенках разных производителей, приобретённых в торговых сетях, почти в 52,6 – 88,9% случаев превышает уровень ПДК [1,2]. Как известно, грибы являются сильнейшими адсорбентами и способны впитывать даже незначительные количества тяжёлых металлов из окружающей среды и субстратов [3,4]. Это свойство грибов уже находит своё применение в разработках систем биоочистки объектов окружающей среды [5,6]. В связи с этим, нами был поставлен эксперимент по выращиванию грибов в лабораторных условиях. В качестве объектов исследования взят Шампиньон обыкновенный (*Agaricus campestris*), как наиболее известный и предпочитаемый в употреблении. Для культивирования смоделированы системы на основе наборов для выращивания грибов «Домашняя грибница» (Россия), состоящих из соломистого субстрата с мицелием и питательного покровного слоя почвы. Всего было шесть наборов, четыре из которых мы искусственно загрязнили незначительными количествами неорганических солей ртути и мышьяка (Таблица 1).

Табл. 1. Характеристика модельных систем (МС)

МС №	Описание МС
1	Первоначальная обработка субстрата дистиллированной водой и полив дистиллированной водой на всех этапах культивирования
2	Первоначальная обработка субстрата водопроводной водой и полив водопроводной водой на всех этапах культивирования
3	Первоначальная обработка водным раствором ртути Hg с массовой концентрацией (C_m) = 1 мг/дм ³ в объеме 50 мл на этапе внесения покровного слоя, полив дистиллированной водой на всех этапах культивирования
4	Первоначальная обработка водным раствором ртути Hg с массовой концентрацией (C_m) = 5 мг/дм ³ в объеме 50 мл на этапе внесения покровного слоя, полив дистиллированной водой на всех этапах культивирования
5	Первоначальная обработка водным раствором мышьяка As с массовой концентрацией (C_m) = 1 мг/дм ³ в объеме 50 мл на этапе внесения покровного слоя, полив дистиллированной водой на всех этапах культивирования
6	Первоначальная обработка водным раствором мышьяка As с массовой концентрацией (C_m) = 5 мг/дм ³ в объеме 50 мл на этапе внесения покровного слоя, полив дистиллированной водой на всех этапах культивирования

В течение двух месяцев были получены две волны свежих Шампиньонов в каждой модельной системе и проведён анализ содержания ртути и мышьяка по ГОСТ Р 56931 - 2016 и ГОСТ 31628 – 2012 в объединённых пробах грибов каждой волны методом инверсионной вольтамперометрии на анализаторе TA-Lab (ООО

«Томьяналит», Россия) [7,8]. Результаты представлены в Таблице 2.

Табл. 2. Массовая концентрация ртути и мышьяка в МС

МС, №	Ртуть, мг/кг			МС, №	Мышьяк, мг/кг		
	Субстрат	<i>Agaricus campestris</i> Boma-1	<i>Agaricus campestris</i> Boma-2		Субстрат	<i>Agaricus campestris</i> Boma-1	<i>Agaricus campestris</i> Boma-2
1	0,0013±	0,0054±	0,0046±	1	0,0165±	0,0053±	0,0055±
	0,0004	0,0016	0,0014		0,0041	0,0013	0,0013
2	0,0275±	0,0433±	0,0383±	2	0,0175±	0,0131±	0,0163±
	0,0083	0,0130	0,0115		0,0044	0,0033	0,0040
3	0,0116±	0,0085±	0,0078±	5	0,0021±	0,0162±	0,0168±
	0,0035	0,0026	0,0023		0,0005	0,0039	0,0029
4	0,0274±	0,0454±	0,0461±	6	0,0052±	0,0182±	0,0174±
	0,0082	0,0139	0,0142		0,0013	0,0046	0,0042

Результаты эксперимента показали, что во всех образцах шампиньонов, выращенных в лабораторных условиях в модельных системах, содержание, как ртути, так и мышьяка находятся в пределах ПДК, независимо от загрязнения и от урожая. По ртути этот показатель составил 0,0046 - 0,0461 мг/кг при норме 0,05 мг/кг согласно ТР ТС 021/2011, а по мышьяку 0,0053 – 0,0182 мг/кг при норме 0,5 мг/кг [9]. Уровень ртути и мышьяка в солоmistом слое с мицелием изначально тоже определяли методом инверсионной вольтамперометрии. По ртути этот показатель составил 0,0013 – 0,0275 мг/кг, по мышьяку 0,0021 – 0,0175 мг/кг. Таким образом, изначально показатели концентрации токсичных металлов самого солоmistого слоя с мицелием низкие. Кроме того, полив в пяти модельных системах осуществляли дистиллированной водой, а в одной – водопроводной. Состав воды полностью соответствовал нормам ПДК. Можно сказать, что ни солоmistый слой с мицелием, ни вода, теоретически не выступали в качестве источников контаминации. Это подтвердилось и практически. Что касается миграции, то есть, перехода неорганических солей ртути и мышьяка в тело шампиньонов, то, согласно полученным данным, мы его не наблюдали на данных модельных системах. Можно сделать вывод, что однократное внесение в малых дозах неорганических солей ртути и мышьяка не приводит к увеличению массовой концентрации этих элементов в шампиньонах. Возможно, чтобы увидеть миграцию, следует провести дополнительные исследования на других модельных системах, учитывая нативное содержание искомых элементов в покровном слое. Эта цель наших дальнейших исследований.

Список литературы:

1. Шевченко С. Е. Мониторинг содержания ртути в грибах //Контроль качества продукции. 2022. №12. С. 48-52. DOI: 10.35400/2541-9900-2022-12-48-52.
2. Шевченко С.Е., Базаркин А. Ю. Оценка влияния качества субстрата на содержание ртути и мышьяка в грибах в технологии культивации // Пищевая промышленность. 2023. № 10. С.19-23. УДК: 635.82:543, DOI: 10.52653/PPI.2023.10.10.004.

3. Красников А. В., Селихова В. С., Красникова Е. С. Аккумуляция тяжелых металлов дикорастущими и культивируемыми грибами(обзор) // Инновации и продовольственная безопасность. 2021. № 1(31). С. 61-66. DOI: 10.31677/2072-6724-2021-31-1-61-66.
4. Jerzy Falandysz, Krzysztof Lipka, Magdalena Gucia, Ма-сахидэ Кавано, Katarzyna Strumnik, Курунтачалам Каннан. Accumulation factors of mercury in mushrooms from Zaborski Landscape Park, Poland // Environ Int. 2002. Nov;28(5):421-7. DOI: 10.1016/s0160-4120(02)00067-3.
5. Искужина М.Г., Кузина Е.В., Мухаматдырова С.Р., Коршунова Т.Ю. Биологические методы очистки окружающей среды от тяжёлых металлов // Экобиотех, 2023. Том 6. № 2 С. 120-138. DOI: 10.31163/2618-964X-2023-6-2-120-138.
6. Ayele A., Haile S., Alemu D., Kamaraj M. Comparative utilization of dead and live fungal biomass for the removal of heavy metal: a concise review // Sci. World. J. 2021. DOI: 10.1155/2021/5588111.
7. ГОСТ Р 56931–2016. Продукты пищевые и продовольственное сырье. Вольтамерометрический метод определения содержания ртути. Москва: Стандартинформ, 2016.
8. ГОСТ 31628 - 2012. Продукты пищевые и продовольственное сырье. Инверсионно-вольтамерометрический метод определения массовой концентрации мышьяка. Москва: Стандартинформ, 2014.
9. ТР ТС 021/2011. Технический регламент Таможенного союза. «О безопасности пищевой продукции». [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/902320560>.

ВОЗМОЖНОСТЬ БИОДЕГРАДАЦИИ ПОЛИЭТИЛЕНА МЕСТНЫМ ШТАММОМ *SHIZOPHYLLUM COMMUNE* EO22

Широких А.А.¹, Широких И.Г.²

¹ФАНЦ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого, Киров,

²Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Киров

Ежегодно во всем мире производится около 140 млн тонн синтетических пластиковых полимеров (Roy et al., 2008), что неизбежно влечет за собой увеличение количества пластиковых отходов. Поскольку процесс микробной деградации пластиков в природной среде происходит крайне медленно, он считается одним из опасных элементов загрязнения окружающей среды. Под воздействием ультрафиолета и атмосферных воздействий пластмассы образуют твердые микрочастицы, увеличивая тем самым площадь поверхности и подвижность, легко включаются в пищевые цепи, оказывают губительное воздействие на все живые организмы и, в целом, представляют большую экологическую проблему (Bonhomme et al., 2003; Sen and Raut, 2015).

В повседневной жизни, для изготовления пленки, упаковочных материалов и предметов бытового назначения используется, в основном, полиэтилен (ПЭ), который составляет 64% от общего объема синтетических пластмасс и его использование увеличивается на 12% ежегодно (Мельникова, 2013). В химическом отношении ПЭ представлен комбинацией $(-C_2H_4-)_n$ с различными значениями n .

Грибы могут разлагать некоторые синтетические пластмассы, благодаря мощной ферментативной системе и развитому мицелию, способному проникать в трещины пластика. К разложению некоторых пластиков, включая ПЭ способны лигнолитические грибы, обладающие лакказами, марганецсодержащими пероксидазами и лигнин-пероксидазами (Srikanth, Sandeep, Sucharitha, et al., 2022). К лигнолитическим грибам «белой гнили» относится вид *Shizophyllum commune* Fr., известный способностью продуцировать различные ценные метаболиты, такие, как противоопухолевый полисахарид шизофиллан, и широкий спектр ферментов, включая целлюлазу, ксиланазу, пектиназу, лакказу, лигнин-пероксидазу и Mn-пероксидазу (Kumar, Bharti, Bezie, 2022). Различные штаммы *S. commune* с высокой продукцией лигнолитических ферментов используют в производстве биоэтанола и разложении различных синтетических красителей (Куликова и др., 2011). Из литературы также известно о способности к деграда-

ции ПЭ представителями этого вида, выделенными из грибных консорциумов, формирующихся при разложении древесины в сухих смешанных вечнозеленых лесах Димбулагал (Шри-Ланка) (Perera, et al., 2021).

Целью работы являлось выяснение способности местного штамма *S. commune* EO22 к деградации ПЭ низкой плотности при жидкофазном и твердофазном культивировании.

Штамм *S. commune* EO22 был выделен в мицелиальную культуру с гниющей древесины клена ясенелистного (*Acer negundo*) в окрестностях г. Киров (подзона южной тайги европейского Северо-Востока). Гриб выращивали на сусло агаре (4°Б) в течение 10 суток. Пробочным сверлом диаметром 10 мм вырезали агаровые блоки с мицелием и помещали по одному блоку в колбы объемом 250 мл, содержащие 75 мл бульона Мартина. Гриб культивировали в колбах при комнатной температуре на качалке семь суток. Полоски полиэтиленовой пленки низкого давления размером 10 40 мм взвешивали на аналитических весах, стерилизовали 75% этанолом в течение 3 минут и помещали в колбы с культурой шизофиллума. Повторность 10-кратная. Контролем служила колба со стерильной средой и полоской ПЭ без инокуляции грибом. Культивирование проводили стационарно при температуре 22°C в течение трех месяцев (90 сут).

При твердофазном культивировании штамм *S. commune* EO22 выращивали на субстрате, состоящем из смеси дубовых опилок (10%), зерна овса (30%) и соломы (60%). Стеклянные сосуды объемом 1 л заполняли субстратом на 2/3 объема и автоклавировали при 1 атм в течение 25 минут. После стерилизации в субстрат помещали по одному агаровому блоку с мицелием и, одновременно, полоску ПЭ, поверхностно стерилизованную этанолом. Сосуды закрывали стерильной фольгой и культивировали при температуре 22°C в течение трех месяцев. По завершении экспериментов полоски ПЭ, в том и другом случае, тщательно отмывали от мицелия, взвешивали и микроскопировали.

Наблюдение за характером роста мицелия в бульоне Мартина показало, что штамм образовывал шаровид-

ные пеллеты, формировал мицелий на стенках колбы и на полосках ПЭ. Однако полоски ПЭ были покрыты мицелием только в двух из десяти повторностей опыта с жидкофазной культурой шизофиллума. Масса полосок ПЭ из этих колб (0,0588 и 0,0407 г) снизилась по сравнению с исходными значениями (0,1076 и 0,0743 г соответственно) на 45% каждая. В других колбах масса полосок ПЭ после инкубирования с грибом практически не изменилась. При расчете убыли массы ПЭ в среднем по опыту, потеря веса пленки составила 11% за 90 сут в результате жидкофазного культивирования штамма.

При микроскопическом изучении во всех колбах наблюдались изменение поверхности полосок ПЭ по сравнению с контролем в виде трещинок и ямок, что является признаками деградации (рис. 1).

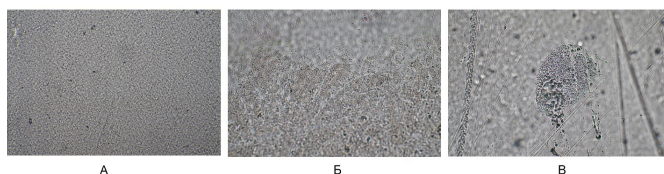


Рис. 1. Поверхность плёнки ПЭ после инкубации с *S. commune* EO22 в бульоне Мартина: А – контроль; Б и В – деградация поверхности ПЭ (×200)

При выращивании штамма *S. commune* EO22 в твёрдофазной культуре мицелий очень плотно окутывал опилки, зерно, солому и плёнки ПЭ. После отмывки плёнок от ассоциированного с ним мицелия практически во всех повторностях при микроскопии наблюдали признаки биodeградации ПЭ (рис. 2).

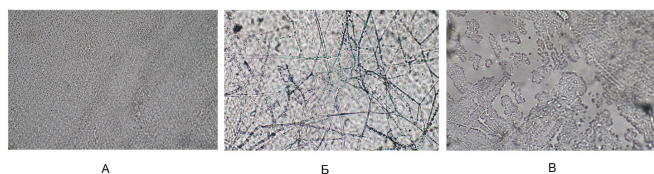


Рис. 2. Поверхность плёнки ПЭ после инкубации с *S. commune* EO22 на твёрдом лигноцеллюлозном субстрате: А – контроль; Б – мицелий на плёнке ПЭ; В – деградация поверхности ПЭ (×200)

Однако при взвешивании плёнок ПЭ, их масса до и после инкубации с грибом изменялась лишь в пределах ошибки измерения. Причиной тому, вероятно, явилось то, что при твёрдофазном культивировании гриба, которое создавало для него более стабильные условия в плане обеспечения питательным субстратом, ПЭ не являлся для шизофиллума единственным источником углерода. Визуальные признаки биodeградации поверхности плёнки ПЭ были, очевидно, обусловлены побочным действием экзоферментного комплекса гриба, направленного на переработку лигноцеллюлозного субстрата (опилки, зерно, солома).

Таким образом, в экспериментах по инкубации полиэтиленовой плёнки совместно с мицелием гриба *S. commune* EO22 установлено, что штамм способен к

биodeградации ПЭ. Процесс биodeградации протекает медленно и существенно зависит от наличия в окружающей среде других источников углерода. Если грибу, при твёрдофазном выращивании, доступны различные источники углерода, то интенсивность процесса деградации пластика незначительна и протекает поверхностно. В отсутствии других источников углерода, при культивировании в жидкой среде, биodeградация ПЭ штаммом происходит значительно глубже, и потеря массы пластика может достигать от 11 до 45% от исходной в течение трех месяцев экспозиции.

Исследование различных штаммов *S. commune*, их метаболизма и ферментного аппарата могут послужить основой для создания биотехнологии переработки пластиковых отходов, что позволит приблизиться к решению комплекса экологических проблем, связанных с пластиковым загрязнением.

Работа выполнена в рамках государственного задания «Федерального аграрного научного центра Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого» № FNWE-2022-0005 и государственного задания Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН по теме «Структура и состояние компонентов техногенных экосистем подзоны южной тайги» (государственная регистрация в ЕГИСУ № 122040100032-5).

Список литературы

- Roy P.K., Titus S., Surekha P., Tulsi E., Deshmukh C., Rajagopal C. Degradation of abiotically aged LDPE films containing pro-oxidant by bacterial consortium // Polym Degrad Stab 93. 2008. P. 1917–1922.
- Bonhomme S., Cuer A., Delort A.M., Lemaire J., Sancelme M., Scott C. Environmental biodegradation of polyethylene // Polym. Degrad. Stab. 2003. Vol. 81. P. 441–452.
- Sen S., Raut S. Microbial degradation of low density polyethylene (LDPE): a review // J. Environ. Chem. Eng. 2015, Vol. 3, P. 462–473.
- Мельникова М.А. Полимерные материалы: свойства, практическое применение. Благовещенск: Амурский гос. ун-т, 2013. 86 с.
- Srikanth M., Sandeep T.S.R.S., Sucharitha, K. et al. Biodegradation of plastic polymers by fungi: a brief review Bioresources Bioprocesses 9, 2022. Vol. 42 <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00532-4>
- Kumar A., Bharti A. K., Bezie Y. Schizophyllum commune: A fungal cell-factory for production of valuable metabolites and enzymes // BioResources. 2022. Т. 17. №. 3. pp. 5420–5436.
- Куликова Н. А., Кляйн О. И., Степанова Е. В., Королёва О. В. Использование базидиальных грибов в технологиях переработки и утилизации техногенных отходов: фундаментальные и прикладные аспекты (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2011. Т. 47(6). С. 619–619.
- Perera P., Deraniyagala A. S., Mahawaththagea M. P. S., Herath H., Rajapakse C. S. K., Wijesinghe P., Attanayake R. N. Decaying hardwood associated fungi showing signatures of polyethylene degradation// BioResources. 2021. Vol. 16(4). P. 7056.

ДРОЖЖЕВЫЕ ГРИБЫ РОДА *RHODOTORULA* КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОДУЦЕНТЫ КАРОТИНОИДОВ

Шляхотко Е.А., Мартынова Е.А., Сапунова Л.И.
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

Актуальной мировой тенденцией является рациональное использование отходов пищевой промышленности и получение на их основе продуктов с добавочной стоимостью. К побочным продуктам сахарного производства относится меласса, которую утилизируют преимущественно в качестве корма для скота. В тоже время, по имеющимся литературным данным, этот субстрат успешно применяют для выращивания продуцирующих каротиноиды микроорганизмов [1-3]. В результате получают обогащенные каротиноидами кормовые дрожжи, которые благотворно влияют на рост и развитие сельскохозяйственных животных, либо очищенные каротиноиды, которые находят применение в различных отраслях народного хозяйства.

Пигменты каротиноидной природы, которые являются продуктом метаболизма растений, грибов, водорослей, микроорганизмов, широко распространены в природе: их к настоящему моменту идентифицировано более 600 [4-6]. Во многих работах было показано, что благодаря своей структуре и воздействию на клетку каротиноиды обладают в разной степени выраженными антиоксидантными, регенерирующими, антимикробными, антивирусными, противовоспалительными, пролиферирующими, UV протекторными свойствами.

Современные исследования сосредоточены на обосновании использования каротинов в качестве новых терапевтических средств для уменьшения симптомов проявления таких заболеваний как рак, нейродегенеративные заболевания, кардиоваскулярные заболевания, церебральная ишемия, диабет, гипертензия, туберкулез, остеопороз, офтальмологические и кожные и другие заболевания.

Микробные каротиноиды привлекли внимание исследователей вследствие возникновения повышенного спроса на натуральные красители для пищевой, текстильной, фармакологической и косметической промышленности. В настоящее время наиболее коммерчески востребованными микробными каротиноидами являются астаксантин, продуцируемый дрожжами *Phaffia rhodozyma*, бактериями *Agrobacterium auranticum* и микроводорослями *Haematococcus pluvialis*; β-каротин, синтезируемый *Blakeslea trispora*; зеаксантин, вырабатываемый флавобактериями. Налаживается производство комплекса каротиноидов (β-каротин, торулоридин, торулин) дрожжевых грибов рода *Rhodotorula* [7].

Представители рода *Rhodotorula* продуцируют различные биологически активные метаболиты при выращивании в средах с отходами различных пищевых производств [8-10]. Кроме каротиноидов их биомасса является источником липидов, содержание которых может составлять до 20 % и более сухого вещества клеток. В составе синтезируемых липидов преобладают олеиновая, линоленовая, пальмитиновая кислоты, которые кроме кормового назначения могут найти применение в производстве биодизеля третьего поколения. Важнейшей особенностью дрожжевых грибов является их способность синтезировать различные ферменты, в частности, L-фенилаланин-аммоний-лиазу (PAL), которая используется для промышленного получения фенилаланина – субстрата для синтеза пищевого подсластителя аспартата.

Благодаря богатому компонентному составу и широкому спектру синтезируемых веществ в средах, содержащих различные промышленные отходы, дрожжевые грибы рода *Rhodotorula* являются перспективными биотехнологическими объектами с высокой экономической рентабельностью основанных на них технологических процессов.

Целью нашего исследования являлся скрининг продуцирующих каротиноиды дрожжевых грибов родов *Rhodotorula* и *Cystobasidium* (ранее *Rhodotorula*), для последующего культивирования их на средах, содержащих промышленные отходы.

В работе использовали образующие пигменты штаммы грибов, депонированные в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси.

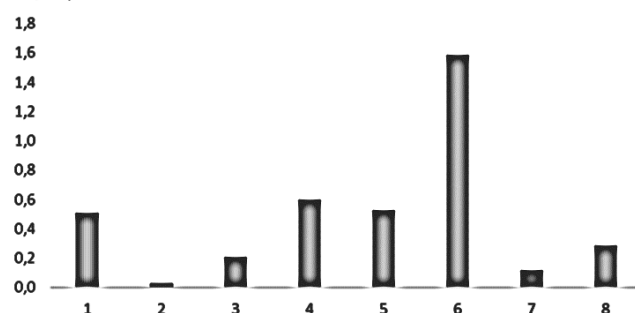
Отбор микробных культур, перспективных в качестве продуцентов каротиноидов, проводили в условиях глубинного культивирования в среде, содержащей (г/л): глюкоза дрожжевой экстракт – 20,0; пептон – 1,3; KH_2PO_4 – 0,2; K_2HPO_4 – 0,08; MgSO_4 – 0,2; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,4; NaCl – 0,04; CaCl – 0,02. Микроорганизмы выращивали в 50 мл среды в колбах Эрленмейера объемом 250 мл при 26°C, 200 об/мин в условиях круглосуточного освещения лампами дневного света в течение 7 сут.

Выделение каротиноидов проводили согласно [11]. Содержание каротиноидов определяли спектрофотометрическим методом при длине волны λ_{490} и выражали в мг/г сухой биомассы (мг/г).

Состав синтезируемого дрожжевыми грибами комплекса каротиноидов анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В качестве растворителя использовали ацетон.

Все исследованные в работе штаммы при культивировании в среде указанного выше состава активно накапливали биомассу и синтезировали каротиноиды в пределах 0,12–1,59 мг/г (рис. 1). Как видно, максимальным уровнем продукции пигментов выделялись штаммы *Rhodotorula glutinis* Y-159, *Rh. glutinis* Y-33, *Rh. glutinis* Y-167 и, в особенности, *Rh. glutinis* Y-10, у которых внутриклеточное содержание каротиноидов составило соответственно 0,51; 0,60; 0,53 и 1,59 мг/г.

Каротиноиды,
мг/г сух. биомассы

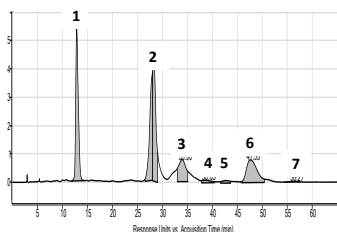


1 – *Rhodotorula glutinis* Y-159, 2 – *Cystobasidium minutum* Y-114, 3 – *C. minutum* Y-117, 4 – *Rh. glutinis* Y-33, 5 – *Rh. glutinis* Y-167, 6 – *Rh. glutinis* Y-10, 7 – *Rh. glutinis* Y-138, 8 – *Rh. glutinis* Y-160.

Рис. 1. Биосинтез каротиноидов различными штаммами.

Результаты анализа препаратов очищенных каротиноидов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии показали, что наиболее продуктивные штаммы *Rh. glutinis* Y-159, Y-10, Y-33 и Y-167, в условиях опыта синтезируют преимущественно торулородин, торулин и β -каротин, а также небольшие количества -каротина и несколько не идентифицированных каротиноидов (рис. 2).

Таким образом, в результате исследований в качестве перспективных продуцентов каротиноидов отобраны 4 штамма дрожжевых грибов *Rh. glutinis*. Установлено, что в составе синтезируемого ими комплекса каротиноидов преобладают торулородин, торулин и -каротин.



1 – торулородин, 2 – торулин, 3 – торулин (изомер), 4 – γ -каротин, 5, 7 – неидентифицированные каротиноиды, 6 – β -каротин

Рис. 2. Каротиноиды, синтезируемые дрожжеподобными грибами *Rh. glutinis* Y-159.

Дальнейшая работа будет посвящена повышению продукции каротиноидных пигментов у отобранных штаммов *Rh. glutinis* Y-159, в том числе при их культивировании в средах, содержащих отходы переработки сельскохозяйственного сырья, для использования в качестве кормовых добавок и субстанций для косметической промышленности.

Список литературы

1. Cheng YT, Yang CF. Using strain *Rhodotorula mucilaginosa* to produce carotenoids using food wastes. J. of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. 2016, 61:270-275.
2. Zheng X, Hu R, Chen D, et al. Lipid and carotenoid production by the *Rhodospiridium toruloides* mutant in cane molasses. Bioresour Technol. 2021, 326:124816.
3. Igreja WS, Maia FA, Lopes AS, Chisté RC. Biotechnological Production of Carotenoids Using Low Cost-Substrates Is Influenced by Cultivation Parameters: A Review. Int J Mol Sci. 2021, 22(16):8819.
4. Bhatt T, Patel K. Carotenoids: Potent to Prevent Diseases Review. Nat Prod Bioprospect. 2020, 10(3):109-117.
5. Saini RK, Prasad P, Lokesh V, et al. Carotenoids: Dietary Sources, Extraction, Encapsulation, Bioavailability, and Health Benefits-A Review of Recent Advancements. Antioxidants (Basel). 2022, 11(4):795.
6. Crupi P, Faienza MF, Naeem MY, et al. Overview of the Potential Beneficial Effects of Carotenoids on Consumer Health and Well-Being. Antioxidants (Basel). 2023, 12(5):1069.
7. Mendes-Silva T, da Silva Andrade RF, Ootani MA, et al. Biotechnological Potential of Carotenoids Produced by Extremophilic Microorganisms and Application Prospects for the Cosmetics Industry. Advances in Microbiology. 2020, 10:397-410.
8. Kot AM, Błażej S, Kurcz A, et al. *Rhodotorula glutinis*—potential source of lipids, carotenoids, and enzymes for use in industries. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2016, 100:6103–6117.
9. Kot AM, Błażej S, Gientka I, et al. Torulene and torularhodin: “new” fungal carotenoids for industry? Microb. Cell Fact. 2018, 17:49.
10. Kot AM, Błażej S, Kieliszek M, et al. Effect of exogenous stress factors on the biosynthesis of carotenoids and lipids by *Rhodotorula* yeast strains in media containing agro-industrial waste. World J. Microbiol. Biotechnol. 2019, 35:157.
11. Davoli P, Mierau V, Weber RWS. Carotenoids and Fatty Acids in Red Yeasts *Sporobolomyces roseus* and *Rhodotorula glutinis*. Applied Biochem. and Microbiol. 2004, 40:392–397.

СВОЙСТВА ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗ ГРИБОВ РОДА *PENICILLIUM*

Жуковская Л.А., Семашко Т.В.
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

Ферменты – макромолекулярные биокатализаторы, которые ускоряют биохимические реакции с высокой эффективностью. Холестеролоксидаза (ХО) (КФ 1.1.3.6.) – фермент, относящийся к классу оксидоредуктаз, катализирующий окисление и изомеризацию холестерина с образованием пероксида водорода. В последнее время данному ферменту уделяется большое внимание, в связи с возрастающим спектром его использования в медицинской и лабораторной практике (определение холестерина в клинических и пищевых образцах), при производстве стероидных гормонов, антимикробных средств и инсектицидов, а также в биосенсорных технологиях [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 – проанализировать свойства ХО продуцируемых отобранными ранее штаммами грибов рода *Penicillium*.

Глубинное культивирование отобранных штаммов проводили в колбах Эрленмейера объемом 250 мл с 50 мл питательной среды, содержащей 0,1% холестерина на качалке (180-200 об/мин) в течение 96 ч при температуре 26-28°C.

Активность внеклеточной ХО определяли спектрофотометрически по методу, основанном на энзиматическом превращении холестерина в холест-4-ен-3-он [4].

Концентрирование и очистку препаратов ХО проводили с помощью ротационного испарителя Rotavapro R-100, осаждения 4М раствором сульфата аммония и гель-фильтрации с адсорбентом Sephadex G-100.

В результате проведенной работы были проанализированы свойства полученных ферментных препаратов ХО, продуцируемые отобранными ранее штамма-

ми грибов рода *Penicillium* (*P. chrysogenum*, *P. roqueforti*, *P. canescens* 1, *P. canescens* 2) такие, как pH-оптимум, pH-стабильность, термооптимум и термостабильность.

При определении pH-оптимумов ХО отобранных штаммов установлено, что оптимальным значением pH для *P. roquefortii* и *P. canescens* 2 являлось pH 7,0, а для штамма *P. canescens* 1 – pH 8,0 (100%-ное сохранение ферментативной активности). Наиболее широким интервалом значений pH (4,0–9,0), в котором проявлялась 100 % каталитическая активность ХО, обладал *P. chrysogenum*.

Что касается pH-стабильности (pH 2,0–10,0) штаммов грибов рода *Penicillium*, то установлено, что при pH 7,0 сохраняется 100,0% активности фермента *P. roqueforti*. В диапазоне значений pH как ниже, так и выше 7,0 остаточная активность ХО данного штамма составила 13,9–78,0%. Через 1 ч инкубирования активность фермента проявлялась только при pH 6,0–8,0 и составила 22,2–72,2%. В диапазоне pH 7,0–10,0 сохранялось 4,8–66,7% активности ХО *P. chrysogenum*. После 1 ч инкубирования остаточная активность проявлялась только при pH 7,0–9,0 и составила 0,8–5,9%. В диапазоне значений pH 5,0–8,0 сохранялось 100,0% ферментативной активности *P. canescens* 1, однако после 1 ч инкубирования при pH 2,0–12,0, наблюдалась полная инактивация фермента. Также было показано, что при pH 5,0–8,0 фермент *P. canescens* 2 сохранял 20,0–100,0%, а после 1 ч инкубирования при pH 7,0 сохранялось 20% ферментативной активности и 10,0% при pH 8,0.

Анализ термостабильности ХО исследуемых штаммов выявил, что наиболее широким диапазоном данного показателя обладали ферменты *P. roqueforti* и *P. canescens* 2 (сохранение 33,3–100,0% остаточной активности при прогревании в течение 1ч в диапазоне темпе-

ратур 20–50°C). ХО *P. chrysogenum*, выдерживала прогревание до 40°C в течение 1 ч с сохранением 50,0–100,0% активности фермента. ХО *P. canescens* 1 была наиболее чувствительна к действию температур (сохранение 100% остаточной активности ХО при инкубировании при 20°C с дальнейшим снижением активности до 14,3% при увеличении температуры до 50°C и инактивации фермента при 60°C).

Оптимальные условия для действия ХО создаются при температуре 30 °C для *P. canescens* 1 и *P. canescens* 2, 20–40 °C для *P. chrysogenum* и *P. roqueforti*.

Таким образом, установлено, что для ХО большинства исследованных штаммов оптимальное значение pH – 7,0. Наиболее широким диапазоном pH-стабильности обладал фермент *P. roqueforti* (сохранение 13,9–100,0% ХО при pH 2,0–10,0). ХО всех исследуемых штаммов выдерживают прогревание до 30–50°C в течение 1 ч, а температурный оптимум находится в диапазоне температур 20–40°C.

Список литературы:

1. Kapoor L., Kanwar S. Cholesterol oxidase and its applications. Adv. Microbiol. – 2012. – Vol. 2 – P. 49–65.
2. Noriyuki D. Characteristics and biotechnological applications of microbial cholesterol oxidases. 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.
4. Enzymatic Assay of Cholesterol Oxidase [электронный ресурс]. – 2021. – Режим доступа: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/protocols/biology/-enzymatic-assay-of-cholesterol-oxidase>. – Дата доступа: 05.04.2021.

Именной указатель

А

Абдульмянова Л.И. – 219
Авазов С.Э. – 247
Автономова А.В. – 329
Агеев Д.В. – 124
Агеева И.В. – 8, 197
Агроскин С.М. – 24
Адилов Б.Ш. – 231
Аксёнов-Грибанов Д.В. – 211
Албантов Г.П. – 9
Алейников С.А. – 129
Алейникова Н.В. – 232
Александрова А.В. – 28, 202
Алексеева К.Л. – 294
Алескерова Ф.Э. – 327
Алехина К.С. – 288
Алиев И.А. – 131
Альдекеева В.Б. – 314
Андреева И.С. – 320
Андрухович А.К. – 253
Аникина Н.А. – 10, 15, 39
Антонов Е.А. – 202
Антонова И.А. – 295
Арабова Г.Г. – 234
Арашкова А.А. – 133
Арканова М.Е. – 160
Архипова А.А. – 50
Аршава Н.В. – 232
Ахметшин Б.С. – 303

Б

Бадалян С.М. – 322
Базаркин А.Ю. – 336
Байракова А.Л. – 259
Бакановская К.Д. – 235
Бакулина А.В. – 323
Баранова О.А. – 236
Барышков Р.В. – 10
Барышникова Н.В. – 50, 61, 65
Басалаева Д.Л. – 200
Баскунов Б.П. – 293
Бахшалиева К.Ф. – 234
Бекмухамедова Н.К. – 12
Белахов В.В. – 295
Белов Г.Л. – 316
Белов С.Н. – 280
Белова Н.В. – 111
Белозерский М.А. – 24
Беломесяцева Д.Б. – 70, 129
Белосохов А.Ф. – 240

Белышенко А.Ю. – 211
Беляева А.И. – 187
Белякова С.Ю. – 238
Бервинова А.А. – 71
Бессолицына Е.А. – 323
Благовещенская Е.Ю. – 274
Блинова Е.О. – 15
Богачева А.В. – 73, 113
Богдаев А.Г. – 17
Богомоллова А.А. – 200
Бойкова И.В. – 295
Болдырев А.Н. – 320
Болотянская Е.А. – 232
Большаков С.Ю. – 74
Борзова А.С. – 77
Борzych О.Г. – 179
Борисов Б.А. – 202, 203
Бочарова Е.А. – 144
Бочкарева Ю.В. – 73
Брандруд Т.Э. – 36
Брыков Г.М. – 79
Булгаков Т.С. – 81
Бухарова Н.В. – 81, 124

В

Вавилина Т.Н. – 211
Вайнштейн М.Б. – 293
Вальчик К.А. – 313
Варфоломеева Е.А. – 314
Василевская М.Е. – 334
Великова Т.Д. – 148
Ветрова С.А. – 285, 288
Ветчинкина Е.П. – 42, 175
Виноградова Ю.А. – 99
Власов Д.Ю. – 157, 158
Власова Т.А. – 8, 197
Волков П.В. – 256
Волобуев С.В. – 74, 107, 124, 127, 335
Вологин С.Г. – 266
Воробьев Н.И. – 45
Воронин Л.В. – 178
Воронина Е.Ю. – 124

Г

Гаврило М.В. – 158
Гаврилова М.Ю. – 282
Гаврилова О.П. – 243, 311
Гагкаева Т.Ю. – 19, 243, 311
Гаджиева С.В. – 219
Гадимов А.Г. – 327

Галкина Е.С. – 232
Ганнибал Ф.Б. – 244
Гарибян Н.Г. – 322
Гасанова В.Я. – 140
Гасич Е.Л. – 244
Гаспарян А.А. – 24
Геворгян С.А. – 206
Герр Е.С. – 282
Глади́н Д.П. – 178
Глушакова А.М. – 50, 52
Гмошинский В.И. – 116
Гогинян В.Б. – 206
Головченко Л.А. – 86
Голубев В.И. – 55
Голубков В.В. – 88
Гомжина М.М. – 244
Гончаров А.А. – 298
Гончарова И.А. – 172
Горбунова А.О. – 224
Горбунова В.А. – 79
Горбунова И.А. – 89, 124
Горнак А.Ю. – 246
Горячкин С.В. – 153
Грибанова Е.А. – 55
Грошева Е.В. – 263
Грум-Гржимайло О.А. – 21
Гультяева Е.И. – 277
Гулямова Т.Г. – 219
Гусева М.А. – 326
Гырнец Е.Ю. – 308

Д

Давыдкин В.Ю. – 259
Данилова О.А. – 21
Данилова Д.Ю. – 143
Дегтярева А.В. – 148
Демидова А.П. – 171
Демидова В.Н. – 299
Демченко С.И. – 296
Денева С.В. – 99
Деревянкина Т.А. – 18
Дешевая Е.А. – 137
Джафарзаде С.А. – 207
Дима Б. – 36
Дишук Н.Г. – 86
Дмитриева М.Е. – 211
Добрянский А.С. – 153
Долгих А.В. – 153
Дудка В.А. – 107
Дунаевский Я.Е. – 24

Е

Еланский А.С. – 240
Еланский С.Н. – 9, 239, 240, 258, 316
Емельянова Е.В. – 48
Енгальчева И.А. – 241, 285, 288
Еноктаева О.В. – 50, 61, 65
Ерофеева Е.А. – 124

Ж

Жалиев В.В. – 290
Жалиева Л.Д. – 290
Железняков С.В. – 208
Жемчужина Н.С. – 238, 291
Жидехина Т.В. – 260
Жуйкова Е.В. – 46
Жуковская Л.А. – 334, 341
Жумаёров Ш.И. – 307
Журавлёва Е.Н. – 203
Жураева Р.Н. – 62
Журакулов Ж.Ж. – 265
Журбенко М.П. – 107

З

Зазовская Э.П. – 153
Зайнитдинова Л.И. – 12, 62
Зачиняев Я.В. – 178
Зачиняева А.В. – 178
Зверев А.О. – 308
Зверева Л.В. – 179
Звягина Е.А. – 118, 124
Звягинцев В.Б. – 70
Зейрук В.Н. – 316
Зиангирова М.Ю. – 329
Змитрович И.В. – 121
Зотова Е.В. – 272
Зубарева О.А. – 123
Зубкова В.М. – 79

И

Иванов А.И. – 91, 124
Иванова А.А. – 210
Иванова Д.Д. – 90, 107
Иванова Е.А. – 298
Ивойлов А.В. – 93
Ильюшин В.А. – 142, 157, 158
Имидоева Н.А. – 211
Иминова М.М. – 265
Исакова Е.Б. – 331
Исгендер Э.О. – 234
Истомина Н.Б. – 186

К

Казакова А.А. – 213
Калинина Л. Б. – 74, 107, 124
Калинина Т.В. – 208
Каменева А.В. – 280
Камзолкина О.В. – 256
Камилов Ш.Г. – 247
Кантерова А.В. – 143
Кантор К.В. – 143
Капитонов В.И. – 96
Карачун В. А. – 253
Карпова Д.В. – 298
Карпун Н.Н. – 122, 203
Катаева М.Н. – 187
Качалкин А.В. – 50, 52, 293
Качмашева О. А. – 95
Каюмов А.Р. – 60
Кирцидели И.Ю. – 157, 158
Киселева М.И. – 238, 291
Кияшко А.А. – 107, 111, 124
Клементьев С.В. – 33
Кобелев А.В. – 33
Кобзарь-Шпиганович А.В. – 86
Ковалева В.А. – 99
Коваленко Н.М. – 45
Коваленко С.А. – 22
Коваль А.В. – 200
Кожабаева Г.Е. – 306
Козарь Е.Г. – 241, 285
Козлов А.В. – 221
Козлова М.В. – 256
Козырева А.М. – 258
Козьминов С.Г. – 100
Кокаева Л.Ю. – 258
Колодязная В.А. – 295
Коломиец Т.М. – 238, 252
Колтовая Н.А. – 58
Кондакова Г.В. – 116, 188
Константинов А.В. – 86
Конькова Э.А. – 236
Копирова Г.И. – 306
Копытина Н.И. – 144
Корзан И.В. – 255
Кориняк С.И. – 129, 253
Коротцева И.Б. – 280
Коршунов Д.В. – 210
Корягин А.В. – 18, 39
Костенко Н.Ю. – 274
Коткова В.М. – 124
Котлова Е.Р. – 32
Кочунова Н.А. – 124
Крапивина Е.А. – 100
Краснобаева И.Л. – 295

Краснопольская Л.М. – 329, 331
Крюков А.А. – 224
Ксенофонтова Н.А. – 155, 298, 308
Кудрявцева О.А. – 24
Кузнецова М.А. – 299
Кузнецова Н.И. – 301
Кулачкова С.А. – 163
Кулинич С.В. – 211
Кулько А.Б. – 25
Кураков А.В. – 163
Курочкин С.А. – 102

Л

Лавлинский А.В. – 27
Лавринова В.А. – 260
Лангаева Н.Н. – 171
Лаптева Е.М. – 99
Ларина Г.Е. – 146, 152, 213
Лахтин В.М. – 259
Лахтин М.В. – 259
Левитин М.М. – 230
Леонова И.Б. – 169
Летвинова В.С. – 133
Леус Т.В. – 210
Лисовская С.А. – 60
Литовка Ю.А. – 103, 160, 326
Лиховидов В.Е. – 28
Лощина Е.А. – 30
Лукин С.М. – 155
Луптакова А.Д. – 105, 107
Лутфуллин М.Т. – 266
Лысак Л.В. – 153
Лысакова В.С. – 329, 331

М

Майорова И.В. – 111
Максимов А.С. – 38
Малыгина Е.В. – 211
Мальшева В.Ф. – 107
Мальшева Е.Ф. – 107
Мамаева Н.Ю. – 148
Мамиев М.С. – 12
Манжиева Б.С. – 32
Марданова А.М. – 266
Маркарян Л.В. – 138
Мартынова Е.А. – 340
Марченко Л.О. – 261
Маслова М.В. – 263
Массалимов И.А. – 303
Матевосян Р.Э. – 138, 206
Махамов А.М. – 287
Медведев А.Г. – 102

Мейсурова А.Ф. – 190
Мелихова А.В. – 259
Мергелов Н.С. – 153
Миндубаев А.З. – 33
Минзанова С.Т. – 33
Миркина Е.В. – 253
Миронов А.Ю. – 134, 135
Митин Д.Н. – 213
Михайлова Е.В. – 203
Михалев В.М. – 150
Михалева Л.Г. – 332
Моргунова М.М. – 211
Мороз Е.Л. – 105
Морозова О.В. – 35, 36, 107, 124
Морозова Ю.А. – 210
Мосеева М.В. – 326
Мурадов П.З. – 234
Мурадова С.А. – 214, 219
Муратова А.Ю. – 216
Мусина К.М. – 306
Мустафаев И.М. – 265
Мустафакулов Ш.С. – 303
Мухин В.А. – 46
Мухина К.С. – 285
Мшенская Н.С. – 17
Мямин В.Е. – 55

Н

Нагуманов Ш.З. – 106
Нанагюлян С.Г. – 138
Нармухаммедова М.К. – 307
Наумова Е.С. – 63
Некляев С.Э. – 152
Низомова Д.К. – 62
Никитин Д.А. – 153, 155, 308
Николаев Н.С. – 157
Николаева А.А. – 266
Николенко М.В. – 50, 65, 61
Новожилов Ю.К. – 105, 107
Ноорделоос М.Е. – 36
Нотов А.А. – 190

О

Ованисян Н.А. – 206
Орина А.С. – 243, 311
Осмоловский А.А. – 200
Охремчук Е.В. – 55

П

Павлов И.Н. – 10, 160, 326
Падутов А.В. – 86

Паламарчук М.А. – 124
Палей А.С. – 326
Панкратова Л.Ф. – 252
Пантелеев С.В. – 22, 86
Панькова И.Г. – 158
Пахолкова Е.В. – 269
Пенькевич А.В. – 270
Переведенцева Л.Г. – 124
Перминова Е.М. – 99
Петровская И.Ф. – 320
Пинчук И.П. – 308
Пирязева Е.А. – 272
Платонов В.А. – 239
Подгорная М.Е. – 261
Поддубко С.В. – 163
Позднякова Н.Н. – 216
Познухова С.С. – 103
Поликсенова В.Д. – 235
Полунина Т.С. – 260
Пономарева А.М. – 63
Попов Е.С. – 107, 124
Попова Э.В. – 45
Попыванов Д.В. – 323
Потапов К.О. – 71, 95, 109, 124
Приходько Е.С. – 310
Прокопьев В.В. – 217
Просянкикова И.Б. – 110
Псурцева Н.В. – 107, 111
Пучкова Т.А. – 38
Пчелкин А.В. – 192, 194, 195

Р

Рагимова С.Н. – 327
Разгуляева Н.В. – 274
Ребриев Ю.А. – 124
Ребрикова Н.Л. – 161
Редина В.В. – 186
Решке К. – 36
Рогожин А.Н. – 299
Родимин В.Д. – 163
Родионова Е.Н. – 50, 52
Романцов С.А. – 113
Рузметов Д.Р. – 231
Русакова И.В. – 155

С

Сазанова Н.А. – 118, 124
Сакулин С.В. – 116
Сальникова Н.Н. – 269
Сапунова Л.И. – 340
Саркина И.С. – 124
Сафина Л.Ф. – 60

Сафонов М.А. – 114
Светашева Т.Ю. – 124
Свирид А.П. – 167, 284
Сеидова Г.М. – 219
Селиванова Г.А. – 282
Семашко Т.В. – 334, 341
Семенов М.В. – 155, 308
Семенчукова Е.А. – 55
Семенюк И.Н. – 299
Сеник С.В. – 32, 107, 111
Серая Л.Г. – 146, 152, 213
Серебряков Е.Б. – 32
Сибикеев С.Н. – 236
Сивкова Д.С. – 50, 61, 65
Сидоренко А.В. – 143
Сидоров Н.М. – 308
Синева О.Н. – 331
Синицына Ю.В. – 17
Скачкова А.Д. – 221
Скоков Д.Н. – 240
Слетова М.Е. – 280
Сметанина Т.И. – 299
Смирнов А.Н. – 165, 310
Смирнов В.Ф. – 10, 15, 18, 39
Смирнова О.Г. – 165
Смолянина С.О. – 210
Соболевская И.Н. – 123
Стахеев А.А. – 298
Степанов В.А. – 285
Стогниенко О.И. – 275, 282

Т

Тазина С.В. – 171
Талуть В.И. – 326
Тарасов К.Л. – 285
Тахирли С.М. – 327
Ташпулатов Ж.Ж. – 62
Тверской В.А. – 137
Темнухин В.Б. – 126
Теплякова Т.В. – 320
Тертышная Ю.В. – 169
Терёшина В.М. – 21
Тихонова Т.О. – 285
Ткаченко О.Б. – 171
Толпышева Т.Ю. – 195
Томашевич Н.С. – 308
Тотменина О.Д. – 320
Тригубович А.М. – 172
Трубин И.И. – 243, 311
Туаева А.Ю. – 63
Турабоев М.Б. – 265
Тураева Б.И. – 287
Турковская О.В. – 216

Тхакахова А.К. – 155, 298, 308

У

Уколова А.Ю. – 299
Усманов И.А. – 231

Ф

Фалеев Д.Г. – 205
Федорова М.Д. – 41
Федюшко И.А. – 83, 246, 255, 313
Филиппова Н.В. – 85, 89, 124
Фомина Н.В. – 326

Х

Харин С.А. – 163
Хархасова И.А. – 22
Хачатурян Н.С. – 206
Хачева С.И. – 97
Хворова С.А. – 266
Храмцов А.К. – 167, 270, 284
Хусаинов А.Н. – 303
Хусанов Т.С. – 307

Ц

Царелунга А.А. – 174
Цивилева О.М. – 222
Цинделиани А.А. – 240

Ч

Чемерис О.В. – 324
Чеснокова М.Г. – 134, 135
Чжэн Л. – 38
Чижик В.К. – 241, 280, 288
Чичерова Д.С. – 17
Чудинова Е.М. – 9, 239, 240

Ш

Шабашова Т.Г. – 70, 129
Шайдаюк Е.Л. – 277
Шалай В.В. – 134, 135
Шалатонова Е.Е. – 65
Шамин А.А. – 275, 282
Шамшин И.Н. – 263
Шатерников А.Н. – 222
Шахова Н.В. – 111, 335
Шевченко С.Е. – 336
Шеримбетов А.Г. – 231, 279
Шингалиев А.С. – 241
Ширнина Л.В. – 120

Широких А.А. – 338
Широких И.Г. – 338
Широков Я.Л. – 39
Ширяев А.Г. – 121, 124
Ширяева О.С. – 124
Шишкин А.Ю. – 18
Шишкина А.А. – 122
Шишкина К.А. – 18
Шляхотко Е.А. – 340
Шнырева А.В. – 41
Шодиева Д.Г. – 219
Шошина Е.И. – 203
Шуктуева М.И. – 329

Э

Эйвазова Г.З. – 327
Элоян И.М. – 138
Эпп Е.В. – 217

Ю

Юрков А.П. – 224
Юрова В.А. – 217
Юскевич В.В. – 28

Я

Якоби Л.М. – 208
Яковлева С.А. – 153
Януцевича Е.А. – 21
Ярмеева М.М. – 240
Яцына А.П. – 198

Научное издание
Современная микология в России

Том 10

Главный редактор
Сергеев Ю.В.

Заместитель главного редактора
Кураков А.В.

Издание
Национальной Академии Микологии

<http://www.mycology.ru>

ISBN 978-5-901578-47-6

Подписано в печать 20.05.2024 Формат
60х90/8
Гарнитура Minion. Печать офсетная.
Усл печ. л. 54,0 Тираж 500 экз.