

СОДЕРЖАНИЕ

Том 55, номер 1, 2021

ОБЗОРЫ И ДИСКУССИИ

Серосодержащие ароматические соединения, токсины
и фармакологически активные метаболиты макромицетов

Н. В. Белова, Н. В. Псурцева

3

БИОРАЗНООБРАЗИЕ, СИСТЕМАТИКА, ЭКОЛОГИЯ

Микориза липы (*Tilia* spp.) в искусственных насаждениях
Санкт-Петербурга

В. А. Дудка, Е. Ф. Малышева, В. Ф. Малышева, Е. А. Жукова

11

ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ, БИОТЕХНОЛОГИЯ

Ферментативная и антимикробная активность полярных штаммов
почвенных микроскопических грибов

*Д. А. Никитин, В. С. Садыкова, А. Е. Куварина,
А. Г. Дах, М. В. Бирюков*

36

ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

Гибридизация между формами *Pyrenophora teres* в природных
популяциях России и Республики Беларусь

*Н. В. Мироненко, Н. М. Лашина, О. А. Баранова,
А. А. Зубкович, О. С. Афанасенко*

51

Фунгистатическая и индуцирующая активность бензойных кислот
в патосистеме “пшеница – *Cochliobolus Sativus*”

Э. В. Попова, Н. М. Коваленко

59

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Mycological Heritage of Johann Buxbaum.

1. Fungi Described in the First “Centuria” Issue (1728)

I. V. Zmitrovich and A. K. Sytin

67

ХРОНИКА

О создании нового электронного архива научных публикаций
по тематике “Химия, биология и физиология”

71

Алфавитный указатель авторов тома 54, “Микология и фитопатология”

72

Contents

Vol. 55, No. 1, 2021

REVIEWS AND DISCUSSIONS

Sulfur-containing aromatic compounds, toxins and pharmacologically active metabolites of macromycetes

N. V. Belova, N. V. Psurtseva

3

BIODIVERSITY, TAXONOMY, ECOLOGY

Mycorrhiza of linden (*Tilia* spp.) in artificial plantings of Saint Petersburg

V. A. Dudka, E. F. Malysheva, V. F. Malysheva, E. A. Zhukova

11

PHYSIOLOGY, BIOCHEMISTRY, BIOTECHNOLOGY

Enzymatic and antimicrobial activity of polar strains of soil microfungi

D. A. Nikitin, V. S. Sadykova, A. E. Kuvarina, A. G. Dah, M. V. Biryukov

36

PHYTOPATHOGENIC FUNGI

Hybridization between *Pyrenophora teres* forms in natural populations of Russia and Republic of Belarus

N. V. Mironenko, N. M. Lashina, O. A. Baranova, A. A. Zubkovich, O. S. Afanasenko

51

Fungistatic and inducing activity of benzoic acids in the “wheat – *Cochliobolus sativus*” pathosystem

E. V. Popova, N. M. Kovalenko

59

SHORT COMMUNICATIONS

Mycological heritage of Johann Buxbaum.

1. Fungi described in the first “Centuria” issue (1728)

I. V. Zmitrovich, A. K. Sytin

67

CHRONICLE

On foundation of new electronic archive of scientific publications “Chemistry, Biology, and Physiology”

71

Authors index (“Mycology and Phytopathology”, V. 54, 2020)

72

ОБЗОРЫ И ДИСКУССИИ

УДК 577.15.086.83 : 582.28

СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ АРОМАТИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ, ТОКСИНЫ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ МАКРОМИЦЕТОВ

© 2021 г. Н. В. Белова^{1,*}, Н. В. Псурцева^{1,**}

¹ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, 197376 Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: cultures@mail.ru

** e-mail: nadyapsu@mail.ru

Поступила в редакцию 15.08.2020 г.

После доработки 15.10.2020 г.

Принята к публикации 19.11.2020 г.

В работе рассмотрены S-содержащие соединения, отвечающие за запах, ядовитые и лекарственные свойства ряда видов макромицетов. Представлены данные о химической структуре и биологической активности органосульфидов, циклических пептидов, эрготионеина и S-содержащих полисахаридов. Приведены виды макромицетов, содержащие сульфиды, токсины, эрготионеин.

Ключевые слова: биологическая активность, запахи, макромицеты, органосульфиды, токсины, циклические пептиды, эрготионеин, S-полисахариды

DOI: 10.31857/S0026364821010049

ВВЕДЕНИЕ

Макромицеты синтезируют большое разнообразие вторичных метаболитов, образующихся на путях азотного и углеродного обмена — пигменты, терпеноиды, поликетиды, фенолы и другие соединения (Zhong, Xiao 2009). Многие метаболиты выполняют важные коммуникационные функции, осуществляя взаимодействия грибов с растениями, животными, насекомыми и микроорганизмами. Широкий спектр биологической активности метаболитов макромицетов находит практическое применение при создании разнообразных медицинских препаратов. Что касается S-содержащих метаболитов, то их доля среди всех метаболитов макромицетов пока относительно невелика, однако их роль и биологическая значимость заслуживают особого внимания. Настоящий обзор посвящен S-содержащим метаболитам макромицетов, обладающим выраженной биологической активностью и лекарственными свойствами.

ОРГАНОСУЛЬФИДЫ — ЛЕТУЧИЕ МЕТАБОЛИТЫ МАКРОМИЦЕТОВ

Макромицеты обладают большим разнообразием запахов, за которые отвечают сложные смеси летучих вторичных метаболитов. Типы веществ, их пропорции и концентрации значительно варьируют у разных видов грибов и зависят от возраста организма, субстрата и окружающей среды. Многочисленные исследования съедобных грибов из *Agaricus*, *Boletus*, *Pleurotus* и ряда других ро-

дов подтвердили, что в создании грибного аромата участвуют сложные смеси углеводов, гетероциклов, альдегидов, кетонов, фенолов, а также бензольных и циклогексановых производных, преимущественное присутствие в которых составляют простые спирты, кетоны и альдегиды — производные C8 (Morath et al., 2012; Moliszewska, 2014; Palazzolo et al., 2017). Впервые S-содержащие метаболиты — диметилсульфид и диметилдисульфид — были обнаружены в составе компонентов запаха у съедобных грибов из родов *Phallus* и *Tuber*. В настоящее время различные сульфиды, содержащиеся от одного до четырех сульфидных радикалов, идентифицировали в составе запаха у следующих видов макромицетов: *Clathrus archeri* (Borgkarlson et al., 1994), *Lentinula edodes* (Wu, Wang, 2000; Sneed et al., 2004; Tocco et al., 2015), *Leucangium carthusianum* (El Enshasy et al., 2013), *Mycetinis alliaceus* (Rapior et al., 1997), *M. scorodoni* (Kuo, 2013; Belova et al., 2015), *Phallus impudicus* (Pudil et al., 2014), *Podaxis pistillaris* (Al-Fatimi et al., 2006, 2007), *Pseudocolus fusiformis* (Kakumyan, Matsui, 2009), *Tricholoma matsutake* (Cho et al., 2008), *Tuber aestivum*, *T. magnatum*, *T. melanosporum* (Gioacchini et al., 2008; Splivallo et al., 2011; Torregiani et al., 2015), *T. brumale* (Kiss et al., 2011), *T. japonicum* (Shimokawa et al., 2019; Belova, Zmitrovich, 2020).

Макромицеты рода *Mycetinis*, включая *M. prasio*, *M. applanatipes*, *M. cinnamomeus*, *M. cope*, *M. landii*, *M. curraniae*, *M. ignobilis*, *M. kallioneus*, *M. opacus*, *M. prasio*, *M. salalis*, *M. quercus*, *M. subalpinus*, *M. virgultorum*, *M. yunnanensis*, облада-

ют чесночным запахом, что позволяет рассматривать их по аналогии с уже исследованными видами этого рода, как синтезирующие сульфиды (Rapior et al., 1997; Belova et al., 2015).

Подобные S-содержащие структуры объединены в класс органополисульфидов. Эти вещества хорошо изучены у растений, причем наиболее богатыми S-содержащими соединениями являются представители семейства крестоцветных и амариллисовых (Tosco et al., 2015).

Содержание сульфидов в элементном составе соединений, отвечающих за запах, невелико и значительно отличается в зависимости от видов грибов. Присутствие сульфидов различной сложности в сочетании с другими метаболитами создает ароматы плодовых тел: собственно “трюфельный” у видов *Tuber*, варьирующий от оттенков сыра, чеснока, фруктов до фенольного (Gioacchini et al., 2008; Moliszewska; 2014; Shimokawa et al., 2019), “грибной” у *Lentinula edodes* (Wu, Wang, 2000; Sneed et al., 2004); “чесночный” у видов *Mycetinis* (Rapior et al., 1997; Belova et al., 2015) и “цветочный” у *Phallus impudicus* (Borgkarlson et al., 1994; Belova, 2011; Pudil et al., 2014). Химические структуры органополисульфидов макромицетов содержат, как правило, метильную группу в качестве органического радикала, в то время как у растений в качестве такового выступают аллил- и диаллил-, либо метилпропил- и метилпропенил-радикалы. Наряду с линейными сульфидами, среди компонентов аромата плодовых тел *Lentinula edodes* идентифицировали лентионин – сульфид с циклической структурой 1,2,3,5,6-пентатиопана. До настоящего времени исследования органополисульфидов грибов ограничены лишь констатацией их наличия, и более детальные исследования в этом направлении отсутствуют (Al-Fatimi et al., 2006, 2007; Kakumyan, Matsui, 2009). В то же время на примере растительных метаболитов изучена активность органосульфидов, для которых доказано проявление широких кардиопротекторных свойств (Tosco et al., 2015; Frankel et al., 2016). Характер такой активности объясняют химической природой органосульфидов и способностью образовывать сероводород (H_2S). Долгое время эту небольшую молекулу рассматривали лишь как ядовитый газ с неприятным запахом тухлых яиц, однако в последние годы многочисленными исследованиями доказано, что она служит сигнальной молекулой во многих физиологических и патологических процессах (Kimura et al., 2012; Kimura, 2014). Большинство макромицетов, образующих органосульфиды, являются съедобными грибами и обладают лекарственными свойствами с широким спектром биологической активности, включая противоопухолевую, иммуномодулирующую, антиоксидантную и др. Однако роль сульфидов в проявлении характера активности макромицетов никогда не исследовали.

ЦИКЛИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ – S-СОДЕРЖАЩИЕ ТОКСИНЫ МАКРОМИЦЕТОВ

Природа токсических свойств макромицетов всегда находилась в центре внимания исследователей. Вариабельность токсического действия грибов объясняется присутствием соединений различной химической природы, ядовитые свойства которых чрезвычайно сложны и опасны. Химия, биохимия и молекулярно-биологические аспекты структур токсинов грибов рода *Amanita* были выполнены в основном в лаборатории профессора Wieland (1983, 1986; Liu 2005). Токсины *A. phalloides* относятся к нескольким типам структур. Большинство токсинов представляет собой циклические олигопептиды, небольшие молекулы белковой природы, структуры которых, разделяются на три группы: аматоксины, фаллотоксины и виротоксины. К группе аматоксинов относятся α -, β -, γ -, ϵ -аманитины, амануллин, амануллиновая кислота, проамануллин и аманин, бициклические пептиды, образующие из восьми аминокислот два цикла, соединенные индол-сульфоксидным мостиком. Другую группу циклопептидов – фаллотоксины – составляют фаллоидин, фаллоид, профаллоин, фаллизин, фаллицин, фаллацидин, фаллизацин (Wieland, Faulstich, 1979; Wieland, 1980; Faulstich, 1982; Liu, 2005; Ahmed et al., 2010). Аматоксины и фаллотоксины являются бициклическими окта- и гепта-пептидами, в структуры которых включена двухвалентная сера или сульфоксидная группа. Вывод серы из структур бициклических пептидов ведет к утрате токсичности соединений. Третья, наименее распространенная группа токсинов – виротоксины, включающая вироидин, алловироидин, дезоксовироидин, (Ala)виroidин, (Ala)дезоксовироидин, вироизин, дезоксовироизин, представлена моноциклическими пептидами. Их токсичность обусловлена присутствием в молекулах 2-метилсульфонилтриптофана или 2-метилсульфокситриптофана (Faulstich et al., 1979, 1980; Liu, 2005). Несмотря на структурную близость, характер токсичности аматоксинов и фаллотоксинов различен: аматоксины являются специфическими ингибиторами RNA полимеразы II, фаллотоксины связывают и стабилизируют F-актин, глобулярный белок полимеризованной формы, из которого образованы микрофиламенты цитоскелета эукариотических клеток (Luo et al., 2009). Наиболее токсичными являются аматоксины, их LD50 составляет 0.1 мг/кг. Токсичность фаллотоксинов составляет 2 мг/кг. Изучению характера токсического действия грибов, способам детоксикации отравлений, а также методам обнаружения циклических пептидов посвящена обширная научная и научно-популярная литература (Wieland, 1983; Hallen et al., 2002, 2007; Musselius, Ryk, 2002; Enjal-

bert et al., 2004; Liu, 2005; Zhang et al., 2010; Tanahashi et al., 2010; Kiyashko, 2015).

Смертельно ядовитые грибы, синтезирующие серосодержащие токсины, относятся к четырем родам макромицетов — *Amanita*, *Conocybe*, *Galerina* и *Lepiota*. Анализ опубликованных данных свидетельствует о том, что среди многочисленных представителей рода *Amanita* Pers., включающего до 1000 видов, циклические пептиды были обнаружены лишь у 14 видов: *Amanita bisporigera* (Enjalbert et al., 2002; Hallen et al., 2007; Luo et al., 2010; McKnight et al., 2010; Walton et al., 2010), *A. decipiens* (Enjalbert et al., 2002), *A. exitialis* (Zhang et al., 2005; Deng et al., 2011; Xue et al., 2011; Hu et al., 2012), *A. hygrophilica* (Johnson, Preston, 1979; Enjalbert et al., 2002), *A. fuliginea* (Zhou et al., 1997; Enjalbert et al., 2002), *A. marmorata* (Hallen et al., 2002), *A. oberwinklerana* (Chen et al., 2003; Yang, 2003), *A. ocreata* (Horgen et al., 1976; Enjalbert et al., 2002), *A. pallidorosea* (Wang et al., 2011), *A. phalloides* (Wieland, 1983, 1986; Ammirati et al., 1985; Bresinsky, Besl, 1990; Gurevich, Zhurkovich, 1995; Konno, 1995; De Haro, 1998; Enjalbert et al., 2002; Hallen et al., 2002, 2007; Liu, 2005; Zhang et al., 2005; Adams 2006; McKnight et al., 2010; Deng et al., 2011; Kaya et al., 2013), *A. suballiacea* (Little, Preston, 1984; Little et al., 1986), *A. tenuifolia* (Block et al., 1955), *A. verna* (Preston et al., 1975; Seeger, Stijve, 1979; Bresinsky, Besl, 1990; Enjalbert et al., 2002), *A. virosa* (Staron, Courtillot, 1975; Faulstich et al., 1979, 1980; Bresinsky, Besl, 1990; Enjalbert et al., 2002; Ahmed et al., 2010). Сравнительно недавно еще у одного из двух новых видов *Amanita* (*A. harkoneniana*), собранных в Африке, идентифицировали аманитины и фаллотоксины. Интересно отметить, что второй из описанных видов (*A. bweyeyensis*) по свидетельствам местного населения не являлся ядовитым, а в его плодовых телах не были обнаружены ни аматоксины, ни фаллотоксины. Однако молекулярный анализ образцов тех же самых плодовых тел показал наличие генов, кодирующих фаллотоксин фаллацидин (Fraiture et al., 2019).

Среди макромицетов рода *Lepiota*, включающего около 400 видов, 23 вида грибов считают ядовитыми, содержащими аманитотоксины: *Lepiota boudieri* (Gerault, Girre, 1975; 1977; Besl et al., 1984; Piqueras, 1989, 1992; Enjalbert et al., 2002), *L. brunneoincarnata*, *L. brunneolilacea*, *L. castanea*, *L. citrophylla* (Enjalbert et al., 2002), *L. clypeolaria* (Pond et al., 1986; Enjalbert et al., 2002), *L. clypeolarioides*, *L. felina*, *L. fuscovinacea*, *L. griseovirens*, *L. heimii*, *L. helveola*, *L. helveoloides*, *L. kuehneri*, *L. langei* (Enjalbert et al., 2002), *L. lilacea* (Klan, 1993; Enjalbert et al., 2002), *L. locanensis*, *L. ochraceofulva*, *L. pseudohelveola* (Enjalbert et al., 2002), *L. pseudolilacea* (Esteve-Ravantos, Altes, 1990; Enjalbert et al., 2002), *L. rufescens* (Klan, 1993; Enjalbert et al., 2002), *L. subincarnata* (Gerault, Girre, 1975, 1977; Enjalbert et al., 2002), *L. xanthophylla* (Besl et al., 1984; Enjalbert et al., 2002).

Среди свыше 150 представителей рода *Conocybe* токсины идентифицированы лишь у двух видов: *Conocybe apala* (Hallen et al., 2003; Arnolds, 2005; Luo et al., 2009; Walton et al., 2010) и *C. filaris* (Brady et al., 1975; Enjalbert et al., 2002; Arnolds, 2005).

Род *Galerina*, насчитывающий более 300 видов базидиомицетов, содержит семь видов, у которых идентифицирован аманитин: *Galerina badipes* (Jacobs et al., 1996; Enjalbert et al., 2002); *G. beinrothii* (Enjalbert et al., 2002), *G. fasciculata* (Muraoka et al., 1999; Muraoka, Shinozawa, 2000), *G. helvoliceps* (Muraoka et al., 1999; Enjalbert et al., 2002), *G. marginata* (Benedict et al., 1966; Benedict, Brady, 1967; Jacobs et al., 1996; Enjalbert et al., 2002; 2004; Hallen et al., 2003; Hallen-Adams et al., 2012), *G. sulciceps* (Xiang et al., 2018) и *G. venenata* (Besl, 1981; Besl et al., 1984; Enjalbert et al., 2002).

Интерес исследователей ядовитых макромицетов всегда был направлен как на изучение природы токсинов, так и на возможность культивирования этих грибов с целью изучения продуктов их метаболизма и процессов биосинтеза ядовитых веществ, а также получения самих токсинов для разработок тест-систем и противоядий. Однако большинство смертельно-ядовитых грибов являются эктомикоризными видами, выделение в культуру и последующее культивирование которых представляет определенные трудности. Виды рода *Amanita*, синтезирующие циклические пептиды, с трудом поддаются культивированию, так как даже в случае успешного получения чистой культуры растут очень медленно и продуцируют в культуре значительно меньше искомого продукта, чем природные плодовые тела. Попытки культивирования *Amanita phalloides* были предприняты китайскими исследователями, которые, потерпев неудачу с этим видом, впервые успешно культивировали другой вид аманит, продуцирующих аматоксины, — *A. exitialis*. Штамм выращивали на жидкой картофель-декстрозной среде в колбах в течение 50 дней. В результате было получено 5 г мицелия (сырой биомассы) на 100 мл среды. Этого количества оказалось достаточно для экстракции и количественного анализа токсинов. Оценивая скорость роста культивированного ими штамма как медленный и выход биомассы как низкий по отношению к видам сапротрофных грибов, но приемлемый для видов эктомикоризных грибов, авторы считают, что подбор условий культивирования, и, в частности, оптимизация компонентов питательной среды, может существенно повлиять на скорость роста, накопление биомассы и синтез искоемых метаболитов (Zhang et al., 2005).

В 2013 г. сотрудниками Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН было проведено целенаправленное исследование по выделению в культуру бледной поганки. В результате многочисленных попыток была получена чистая культура *A. phalloides* LE-BIN 4016 (MW036159). Штамм был

верифицирован методом ПЦР-анализа, а полученная нуклеотидная последовательность ITS участка депонирована в Генбанк NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Несмотря на медленный рост и избирательное требование к среде культивирования, штамм сохраняет жизнеспособность при регулярных пересевах и успешно сохраняется в Коллекции культур базидиомицетов БИН РАН с 2014 г.

Однако культивирование сапротрофных видов грибов, синтезирующих циклические пептиды, кажется более доступным, хотя публикаций по культивированию штаммов таких грибов немного. Наиболее перспективным в этом отношении представляется род *Galerina* (Benedict et al., 1966; Besl et al., 1984; Muraoka et al., 1999; Muraoka, Shinozawa, 2000). Авторами этих работ единодушно было показано, что при культивировании штаммы *Galerina* продуцировали внутриклеточные аманитины, при этом состав среды и условия культивирования существенным образом влияли и на накопление биомассы, и на биосинтез токсичных метаболитов. Одним из исследованных и перспективных в этой связи видов является *G. marginata*. Значительное штаммовое разнообразие этого вида (свыше 10 штаммов) сохраняется в Коллекции культур базидиомицетов БИН РАН. Штаммы были верифицированы с применением ПЦР анализа, и полученные ITS сиквенсы депонированы в Генбанк NCBI. В результате изучения ростовых и культурально-морфологических характеристик штаммов *G. marginata*, а также их культивирования на жидких средах, были отобраны штаммы LE-BIN 2545 (KY327297) и LE-BIN 2837 (KY327295) как наиболее перспективные для дальнейших исследований в качестве продуцентов циклических пептидов (Psurtseva, Shakhova, 2015).

СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ МЕТАБОЛИТЫ МАКРОМИЦЕТОВ С ЛЕКАРСТВЕННЫМИ СВОЙСТВАМИ

В настоящее время высокие диетические достоинства ряда съедобных грибов связывают не только с их ароматом и пищевой ценностью, но и с присутствием биологически активных *S*-содержащих метаболитов (Eu et al., 2007). Разнообразие терпеноидов, полисахаридов, полифенолов определяет биологическую активность многих грибов. Среди всего спектра биологических эффектов грибов наибольший интерес в настоящее время вызывают антиоксидантные свойства (Kozarski et al., 2015; Ciric et al., 2020). Исследования показали, что антиоксидантная активность ряда видов грибов связана с присутствием таких известных низкомолекулярных *S*-содержащих метаболитов, как глутатион и эрготионеин (Kalaras et al., 2017). Глутатион – трипептид γ -глутамилцистеинилглицина, определяет окислительно-восстановитель-

ный клеточный баланс в организме. Эрготионеин – *S*-содержащее производное аминокислоты гистидина, был известен в различных микроорганизмах и несовершенных грибах (Paul, Snyder, 2010; Cheah, Halliwell, 2012; Nguyen et al., 2013). В ходе исследования макромицетов эрготионеин был обнаружен у следующих видов: *Agaricus bisporus*, *A. blazei*, *Armillaria mellea*, *Coprinus comatus*, *Cordyceps militaris*, *Cyclocybe cylindracea*, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceus*, *Hypsizygus marmoreus*, *Pleurotus eryngii*, *Taiwanofungus camphoratus*, *T. salmoneus*, *Trametes versicolor*, *Tropicoporus linteus* (Chang et al., 2012; Cohen et al., 2014; Kalac 2016) и *Hygrophorus eburneus* (Kosanec et al., 2020). Было показано, что содержание эрготионеина у макромицетов значительно варьирует в зависимости от их видовой принадлежности (Dubost et al., 2007; Chang et al., 2012).

Биологическую активность эрготионеина в настоящее время связывают с его участием в процессах липидного окисления (Agrawal, Dhanasekaran 2019; Kosanec et al., 2020). Полагают, что эрготионеин может быть полезным для предотвращения заболеваний, вызванных различными стрессовыми факторами, в том числе при болезни Альцгеймера (Cheah, Halliwell, 2012; Cheah et al., 2016).

Помимо низкомолекулярных *S*-содержащих биологически активных метаболитов, высшие грибы продуцируют и высокополимерные соединения, содержащие серу. Впервые сведения о *S*-полисахаридах были получены при изучении плодовых тел съедобного гриба *Lentinula edodes* (Hobbs, 2000). Сравнительно недавно у двух видов лекарственных грибов *Taiwanofungus camphoratus* и *Wolfiporia extensa* были обнаружены новые *S*-содержащие активные полисахариды, различающиеся по величине массы и степени активности. Полисахарид из плодовых тел *Taiwanofungus camphoratus* был идентифицирован как сульфатированный 1,6-разветвленный 1,4- β -D-галактогликан, (B86-III) (SPSs) с более высоким эффектом ингибирования образования эндотелиальных клеток (EC) в анализе ангиогенеза *in vitro* по сравнению с полисахаридами штамма 35396 и *Wolfiporia extensa* (*Poria cocos*). По мнению исследователей, иммуностимулирующая и противоопухолевая активность грибов может быть связана со способностью сульфатированных полисахаридов ингибировать ангиогенез как ингибированием NF- κ B, так и индукцией транслокации NF- κ B/Rel (Cheng et al., 2012; Lu et al., 2017). Уже известная ранее противовирусная активность сульфатированных полисахаридов недавно была подтверждена *in vitro* эффективным ингибированием SARS-CoV-2 (Kwon et al., 2020).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, присутствие *S*-содержащих вторичных метаболитов различной сложности — летучих сульфидов, циклических пептидов, сложных аминокислот и полисахаридов свидетельствует об активной роли серы в метаболизме высших грибов. Биологические эффекты этих соединений полностью еще не изучены. В то время как циклические пептиды ответственны за токсичность смертельно ядовитых грибов, органосульфиды, эрготионеин, глутатион и серосодержащие полисахариды определяют как аромат, вкусовые и диетические достоинства, так и биологическую активность многих видов съедобных и лекарственных макромицетов.

Авторы выражают благодарность И.В. Змитровичу и С.П. Вассеру за ценные замечания, дополнения и помощь в редактировании рукописи статьи. Работа выполнена в рамках Государственного задания Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН, регистрационный номер темы АААА-А19-119020890079-6.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Adams R.I., Hallen H.E., Pringle A. Primer Note: Using the incomplete genome of the ectomycorrhizal fungus *Amanita bisporigera* to identify molecular polymorphisms in the related *Amanita phalloides* // *Molecular Ecology Notes*. 2006. V. 6. P. 218–220.
- Agrawal D.C., Dhanasekaran M. Medicinal mushrooms: recent progress in research and development. In: *L-Ergothioneine — a potential bioactive compound from edible mushrooms*. Springer, Singapore, 2019. P. 391–408.
- Ahmed W.H., Gonmori K., Suzuki M. *et al.* Simultaneous analysis of α -amanitin, β -amanitin, and phalloidin in toxic mushrooms by liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry. *Forensic Toxicology*. 2010. V. 28. P. 69–76.
- Al-Fatimi M., Jansen R., Wolf-Dieter J. *et al.* Bioactive components of the traditionally used mushroom *Podaxis pistillaris*. *eCAM*. 2006. V. 3. № 1. P. 87–92.
- Al-Fatimi M., Jansen R., Wolf-Dieter J. *et al.* Phytochemical and biological investigations of the Yemeni Mushroom *Podaxis pistillaris*. 6th Europ. Colloquium on Ethnopharmacology. Leipzig. 2007.
- Ammirati J.F., Traquair J.A., Horgen P.A. Poisonous mushrooms of Canada including other inedible fungi. Fitzhenry and Whiteside, Markham, 1985.
- Arnolds E. *Conocybe* Fay. In: M.E. Noordeloos, T.W. Kuyper and E.C. Vellinga (eds.). *Flora Agaricina Neerlandica*. 2005. V. 6. P. 120–179.
- Belova N.V. Sulfur-containing compounds in the fruit bodies of macromycetes. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2011. V. 15. № 3. P. 201–208 (in Russ.).
- Belova N.V., Sazanova K.V., Shavarda A.L. Metabolic analysis of mycelium and fruiting bodies of *Mycetinis alliaceus* (Jacq.) Earle ex A.W. Wilson et Desjardin. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2015. V. 49. № 5. P. 305–312 (in Russ.).
- Belova N.V., Zmitrovich I.V. Organopolysulfides of macromycetes: chemistry, ecological role and biological activity. *Modern mycology in Russia*. 2020. V. 8. Proceedings of the 4th International Mycological Forum. Moscow, 2020. (in Russ.).
- Benedict R.G., Brady L.R. Further studies on fermentative production of toxic cyclopeptides by *Galerina marginata* (Fr.) Kuhn. *Lloydia*. 1967. V. 30. P. 372–378.
- Benedict R.G., Tyler V.E., Bredy L.R. *et al.* Fermentative production of *Amanita* toxins by strain of *Galerina marginata*. *J. Bacteriol.* 1966. V. 91. № 3. P. 1380–1381.
- Besl H. Amatoxins in greenhouses, *Galerina sulciceps*, a tropical toxic mushroom. *Zeitschr. Mykologie*. 1981. V. 47. № 2. P. 253–256.
- Besl H., Mack P., Schmied-Heckel I. *Gitipilze in den Gattungen Galerina und Lepiota*. *Zeitschr. Mykologie*. 1984. V. 50. P. 183–189.
- Block S.S., Stephens R.I., Barreto A. *et al.* Chemical identification of the *Amanita* toxins in mushrooms // *Science*. 1955. V. 121. P. 505–506.
- Borgkarlson A.K., Englund F.O., Unelius C.R. Dimethyl oligosulphides, major volatiles released from *Sauromatum guttatum* and *Phallus impudicus*. *Phytochemistry*. 1994. V. 35. № 2. P. 321–323.
- Brady L.R., Benedict R.G., Tyler D.E. *et al.* Identification of *Conocybe filaris* as a toxic basidiomycete. *Lloydia*. 1975. V. 38. P. 172–173.
- Bresinsky A., Besl H. A colour atlas of poisonous fungi. Wolfe Publishing Ltd., 1990.
- Chang Y.L., Lin S.Y., Ulzijjargal E. *et al.* Comparative study of contents of several bioactive components in fruiting bodies and mycelia of culinary-medicinal mushrooms. *Int. J. Medicinal Mushrooms*. 2012. V. 14. № 4. P. 357–363.
- Cheah I.K., Feng L., Tang R.M.Y. *et al.* Ergothioneine levels in an elderly population decrease with age and incidence of cognitive decline; a risk factor for neurodegeneration? *Biochem. Biophysical Res. Communications*. 2016. V. 478. № 1. P. 162–167. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.07.074>
- Cheah L.K., Halliwell B. Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012. № 5. P. 784–793.
- Chen Z.H., Hu J.S., Zhang Z.G. *et al.* Determination and analysis of the main amatoxins and phallotoxins in 28 species of *Amanita* from China. *Mycosystema*. 2003. V. 22. P. 565–573.
- Cheng J.-J., Chang C.-C., Chao C.-H. Characterization of fungal sulfated polysaccharides and their synergistic anticancer effects with doxorubicin. *Carbohydrate Polymers*. 2012. V. 90. № 1. P. 134–139. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.005>
- Cho I.H., Namgung H.J., Choi H.K. *et al.* Volatiles and key odorants in the pileus and stipe of pine-mushroom (*Tricholoma matsutake* Sing.). *Food Chemistry*. 2008. V. 106. № 1. P. 71–76.
- Ciric M.Z., Dabetic N., Todorovic V. Beta-glucan content and antioxidant activities of mushroom-derived food supplements. *J. Serbian Chemical Society*. 2020. V. 85. № 4. P. 439–451.
- Cohen N., Cohen J., Asatiani M.D. *et al.* Chemical composition and nutritional and medicinal value of fruit bodies and submerged cultured mycelia of culinary-medicinal

- Higher Basidiomycetes mushrooms. Int. J. Medicinal Mushrooms 2014. V. 16. № 3. P. 273–291.
- De Haro L., Jouglaard J., Arditti J. et al. Acute renal insufficiency caused by *Amanita proxima* poisoning: Experience of the Poison Center of Marseille. Nephrologie. 1998. V. 19. № 1. P. 21–24.
- Deng W.Q., Li T.H., Xi P.G. et al. Peptide toxin components of *Amanita exitialis* basidiocarps. Mycologia. 2011. V. 103. № 5. P. 946–949.
<https://doi.org/10.3852/10-319>
- Dubost N.J., Ou B., Beelman R.B. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. Food Chemistry. 2007. V. 105. P. 727–735.
- El Enshasy H., Elsayed E.A., Aziz R. et al. Mushrooms and truffles: historical biofactories for complementary medicine in Africa and in the Middle East. Evid Based Complement Alternat Med. 2013.
<https://doi.org/10.1155/2013/620451>
- Enjalbert F., Cassanas G., Rapior S. et al. Amatoxins in wood-rotting *Galerina marginata*. Mycologia. 2004. V. 96. № 4. P. 720–729.
- Enjalbert F., Rapior S., Nouguié-Soule J. et al. Treatment of amatoxin poisoning: 20-year retrospective analysis. Clinical Toxicology. 2002. V. 40. № 6. P. 715–757.
- Esteve-Raventos F., Altes A. Tres interesantes *Lepiotes* toxicas en la Provincia de Madrid. Bol. Soc. Micologica de Madrid. 1990. V. 14. P. 161–168.
- Ey J., Schömig E., Taubert D.J. Dietary sources and antioxidant effects of ergothioneine. Agrical Food Chemistry. 2007. V. 55. № 16. P. 6466–6474.
<https://doi.org/10.1021/jf071328f>
- Faulstich H., Buku A., Bodenmüller H. et al. New toxic cyclopeptides from *Amanita virosa* mushroom. Struct. Act. Nat. Pept. Proc. Fall Meet. Ges. Boil. Chem. 1979. P. 189–199.
- Faulstich H., Buku A., Bodenmüller H. et al. Virotoxins: actin binding cyclic peptides of *Amanita virosa* mushrooms. Biochemistry. 1980. V. 19. P. 3334–3343.
- Fraiture A., Amalfi M., Raspé O. et al. Two new species of *Amanita* sect. *Phalloideae* from Africa, one of which is devoid of amatoxins and phallotoxins. MycoKeys. 2019. V. 53. P. 93–125.
<https://doi.org/10.3897/mycokeys.53.34560>
- Frankel F., Priven M., Richard E. et al. Health functionality of organosulfides: a review. Int. J. Food Properties. 2016. V. 19. № 3. P. 537–548.
- Gerault A., Girre L. Miss au Point sur les intoxications par les champignons supérieurs. Bull. Soc. Mycol. France. 1977. V. 93. № 3. P. 373–404.
- Gerault A., Girre L. Recherches toxicologiques sur le genre *Lepiota* Fries. Comptes Rendus de l'Académie Sci. Paris. 1975. V. 280. № 25. P. 2841–2843.
- Gioacchini A.M., Menotta M., Guescini M. et al. Geographical traceability of Italian white truffle (*Tuber magnatum* Pico) by the analysis of volatile organic compounds. Rapid Communications in Mass Spectrometry. 2008. V. 22. P. 3147–3153.
- Gurevich L.S., Zhurkovich I.K. Toxins of some species of the genus *Amanita* Pers. Mikologiya i fitopatologiya. 1995. V. 29. № 1. P. 41–50 (in Russ.).
- Hallen H.E., Adams G.C., Eicker A. Amatoxins and phallotoxins in indigenous and introduced South African *Amanita* species. Southern African J. Botany. 2002. V. 68. P. 322–326.
- Hallen H.E., Luo H., Scott-Craig J.S. et al. Gene family encoding the toxins of lethal *Amanita* mushrooms. PNAS USA. 2007. V. 104. № 48. P. 19097–19101.
- Hallen H.E., Watling R., Adams G.C. Taxonomy and toxicity of *Conocybe lactea* and related species. Mycol. Res. 2003. V. 107. P. 969–979.
- Hallen-Adams H.E., Scott-Craig J.S., Walton J.D. et al. Use of *Galerina marginata* genes and proteins for peptide production. US patent № 20120276588, 2012.
- Hobbs C.R. Medicinal value of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (*Agaricomycetidae*). A literature review. Int. J. Medicinal Mushrooms. 2000. V. 2. № 2. P. 287–302.
- Horgen P.A., Ammirati J.F., Their H.D. Occurrence of amatoxins in *Amanita ocreata*. Lloydia. 1976. V. 39. P. 368–371.
- Hu J., Zhang P., Zeng J. Determination of amatoxins in different tissues and development stages of *Amanita exitialis*. J. Science Food Agric. 2012. V. 92. P. 2664–2667.
- Jacobs J., Von Behren J., Kreutzer R. Serious mushroom poisonings in California Requiring Hospital Admission, 1990–1994. West Indian Medical J. 1996. V. 165. P. 283–288.
- Johnson B.C., Preston J.F. Unique amanitin resistance of RNA synthesis in isolated nuclei from *Amanita* species accumulating amanitins. Archives of Microbiology. 1979. V. 122. P. 163–167.
- Kakumyan P., Matsui K. Characterization of volatile compounds in *Astraeus* spp. Biosci. Biotechnol. Bioshem. 2009. V. 73. № 12. P. 2742–2745.
- Kalac P. Edible mushrooms. Chemical composition and nutritional value. Elsevier, 2016
- Kalaras M.D., Richie J.P., Calcagnotto A. et al. Mushrooms: A rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. Food Chemistry. 2017. V. 15. № 233. P. 429–433.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.109>
- Kaya E., Karahan S., Bayram R. et al. Amatoxin and phalloxin concentration in *Amanita phalloides* spores and tissues. Toxicology and Industrial Health. 2013. P. 1–6.
- Kimura H. Antioxid redox signal. Production and physiological effects of hydrogen sulfide. 2014. V. 20. № 5. P. 783–793.
<https://doi.org/10.1089/ars.2013.5309>
- Kimura H., Shibuya N., Kimura Y. Hydrogen sulfide is a signaling molecule and a cytoprotectant. Antioxidants and redox signaling. 2012. V. 17. № 1. P. 45–57.
<https://doi.org/10.1089/ars.2011.4345>
- Kiss M., Csóka M., Györfi J. et al. Comparison of the fragrance constituents of *Tuber aestivum* and *Tuber brumale* gathered in Hungary. J. Applied Botany and Food Quality. 2011. V. 84. P. 102–110.
- Kiyashko A.A. The word concerning toadstools. Planeta Gribov. St. Petersburg Mycological Society. 2015. V. 1. № 7. C. 27–42 (in Russ.).
- Klan J. Prehleb hub obsahujících amanitiny a faloidiny (the survey of fungi containing amanitins and phalloidins). Cas Lek Cesk. 1993. V. 132. № 15. P. 449–451.

- Konno K. Biologically active components of poisonous mushrooms. *Food Reviews Int.* 1995. V. 11. № 1. P. 83–107.
- Kosanac M.M., Šeklic D.S., Jovanovic M.M. *Hygrophorus eburneus*, edible mushroom, a promising natural bioactive agent. *EXCLI Journal*. 2020. V. 31. № 19. P. 442–457.
<https://doi.org/10.17179/excli2019-2056>
- Kozarski M., Klaus A., Jakovljevic D. Antioxidants of edible mushrooms. *Molecules*. 2015. V. 20. № 10. P. 19489–19525.
<https://doi.org/10.3390/molecules201019489>
- Kuo M. *Mycetinis scorodoni*. Retrieved from the MushroomExpert.Com Web site. 2013, January.
http://www.mushroomexpert.com/mycetinis_scorodoni.html
- Kwon P.S., Oh H., Kwon S.-J. et al. Sulfated polysaccharides effectively inhibit SARS-CoV-2 invitro. *Cell Discovery*. 2020. V. 6. N. 50.
<https://doi.org/10.1038/s41421-020-00192-8>
- Little M.C., Preston J.F., Jackson C. Alloviroidin, the naturally occurring toxic isomer of the cyclopeptide viroidin. *Biochemistry*. 1986. V. 25. P. 2867–2872.
- Little V.C., Preston J.F. The fluorimetric detection of amatoxins, phallotoxins and other peptides in *Amanita suballiacea*. *J. Natural Products*. 1984. V. 47. P. 93–99.
- Liu J.K. N-Containing compounds of macromycetes. *Chemical Reviews*. 2005. V. 105. № 7. P. 2723–2744.
- Lu M.K., Lin T.Y., Chao C.H. et al. Molecular mechanism of *Antrodia cinnamomea* sulfated polysaccharide on the suppression of lung cancer cell growth and migration via induction of transforming growth factor β receptor degradation. *J. Biological Macromolecules*. 2017. V. 95. P. 1144–1152.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.004>
- Luo H., Hallen-Adams H.E., Scott-Craig J.S. et al. Colocalization of amanitin and a candidate toxin-processing prolyl oligopeptidase in *Amanita basidiocarps*. *Eukaryotic Cell*. 2010. P. 1891–1900.
- Luo H., Hallen-Adams H.E., Walton J.D. Processing of the phalloidin protein by prolyl oligopeptidase from the mushroom *Conocybe albipes*. *J. Biological Chemistry*. 2009. V. 284. № 27. P. 18070–18077.
- McKnight T.A., McKnight K.B., Skeels M.C. Amatoxin and phallotoxin concentration in *Amanita bisporigera* spores. *Mycologia*. 2010. V. 102. № 4. P. 763–765.
- Moliszewska E. Mushroom flavor. *Folia Biologica et Oecologica*. 2014. № 10. P. 80–88.
- Morath S.U., Hung R., Bennet J.W. Fungal volatile organic compounds: A review with emphasis on their biotechnological potential. *Fungal Biology Reviews*. 2012. V. 26. № 73. P. 355–383.
- Muraoka S., Fukamachi N., Mizumoto K. et al. Detection and identification of amanitins in the wood-rotting fungi *Galerina fasciculata* and *Galerina helvoliceps*. *Appl. Environmental Microbiology*. 1999. V. 65. № 9. P. 4207–4210.
- Muraoka S., Shinozawa T. Effective production of amanitins by two-step cultivation of the basidiomycete, *Galerina fasciculata* GF-060. *J. Bioscience and Bioengineering*. 2000. V. 89. № 1. P. 73–76.
- Musselius S.G., Ryk A.A. Mushroom poisoning. Moscow, 2002 (in Russ.).
- Nguyen H., Nagasaka R., Ohshima T. Lipid oxidation challenges in food systems. The natural antioxidant ergothioneine: resources, chemical characterization, and applications. 2013. P. 381–415.
- Palazzolo E., Saiano F., Laudicina V.A. et al. Volatile organic compounds in wild fungi from Mediterranean forest ecosystems. *J. Essential Oil Research*. 2017. V. 29. P. 385–390.
- Paul B.D., Snyder S.H. The unusual amino acid L-ergothioneine is a physiologic cytoprotectant. Cell death and differentiation. 2010. V. 17. № 7 P. 1134–1140.
<https://doi.org/10.1038/cdd.2009.163>
- Piqueras J. Hepatotoxic mushroom poisoning: diagnosis and management. *Mycopathologia*. 1989. V. 105. P. 99–110.
- Piqueras J. Terapeutica de la intoxicacion par *Amanita phalloides*. *Atencion Farmaceutica: European Journal*. 1992. V. 9. № 3. P. 221–228.
- Pond S.M., Olson K.R., Woo O.F. et al. Amatoxin poisoning in Northern California. 1982–1983. *West Indian Medical J.* 1986. V. 145. № 2. P. 204–209.
- Preston J.F., Stark H.J., Kimbrough J.W. Quantitation of amatoxins in *Amanita verna* with calf thymus RNA polymerase B. *Lloydia*. 1975. V. 38. P. 153–161.
- Psurtseva N.V., Shakhova N.V. Growth and morphological features of *Galerina marginata* (Batsch) Kühner strains producing cyclic peptides under surface and submerged cultivation. *Modern mycology in Russia*. 2015. V. 5. № 6, pp. 345–347 (in Russ.).
- Pudil F., Uvira R., Janda V. Volatile compounds in stinkhorn (*Phallus impudicus* L. ex Pers.) at different stages of growth. *European Scientific Journal*. 2014. V. 10. P. 1857–1881.
- Rapier S., Breheret S., Talou T. et al. Volatile flavour constituents of fresh *Marasmius alliaceus* (Garlic Marasmius). *J. Agricultural and Food Chemistry*. 1997. V. 45. P. 820–825.
- Seeger R., Stijve T. Amanitin content and toxicity of *Amanita verna*. *Bull. Zeitschr. Naturforschung. C.* 1979. V. 34. № 5–6. P. 330–333.
- Shimokawa T., Kinoshita A., Kusumoto N. Component feature, odor-active volatiles, and acute oral toxicity of novel white-colored truffle *Tuber japonicum* native to Japan. *Food Science Nutrition*. 2019. P. 1–9.
- Sneeden E.Y., Harris H.H., Pickering I.J. et al. The sulfur chemistry of Shiitake mushroom. *J. American Chemical Society*. 2004. V. 126. P. 458–459.
- Splivallo R., Ottonello S., Mello A. et al. Truffle volatiles: from chemical ecology to aroma biosynthesis. *New Phytologist*. 2011. V. 189. № 3. P. 688–699.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03523.x>
- Staron T., Courtillot M. Quelques donnees nouvelles sur les toxins d'*Amanita virosa* et d'*A. phalloides*. *Bull. Soc. Mycol. France*. 1975. V. 91. P. 556–559.
- Tanahashi M., Kaneko R., Hirata Y. et al. Simple analysis of α -amanitin and β -amanitin in human plasma by liquid chromatography-mass spectrometry. *Forensic Toxicology*. 2010. V. 28. № 2. P. 1–5.
- Tocmo R., Liang D., Lin Y. et al. Chemical and biochemical mechanisms underlying the cardioprotective roles of

- dietary organopolysulfides. *Frontiers in Nutrition*. 2015. V. 2. P. 1–18.
- Torregiani E., Lorier S., Sagratini G. et al. Comparative analysis of the volatile profile of 20 commercial samples of truffles, truffle sauces, and truffle-flavored oils by using HS-SPME-GC-MS. *Food Analytical Methods*. 2017. V. 10. P. 1857–1869. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0749-2>
- Walton J.D., Hallen-Adams H.E., Luo H. Ribosomal biosynthesis of the cyclic peptide toxins of *Amanita* mushrooms. *Peptide Science*. 2010. V. 94. № 5. P. 659–664.
- Wang Y., Bao H., Xu L. et al. Determination of main peptide toxins from *Amanita pallidorosea* with HPLC and their antifungal action on *Blastomyces albicans*. *Acta Microbiologica Sinica*. 2011. V. 51. № 9. P. 1205–1211.
- Wieland T. Peptides of poisonous *Amanita* mushrooms. Springer, Berlin, 1986.
- Wieland T. The chemistry of *Amanita* toxins. Amanitotoxins: Structure and RNA polymerase B inhibition, in: Faulstich, Kommerell, Wieland. 1980. P. 22–32.
- Wieland T. The toxic peptides from *Amanita* mushrooms. *Int. J. Peptide and Protein Research*. 1983. V. 22. P. 257–276.
- Wieland T., Faulstich H. Amatoxins, phallotoxins, phallolysin and antamanide: the biologically active components of poisonous *Amanita* mushrooms. *CRC Crit. Rev. Biochem.* 1978. V. 5. № 3. P. 185–260.
- Wu C.M., Wang Z. Volatile compounds in fresh and processed shiitake mushrooms (*Lentinus edodes* Sing.). *Food Science and Technology Research*. 2000. V. 6. № 3. P. 166–170.
- Xiang H., Zhou Y., Zhou C. et al. Investigation and analysis of *Galerina sulciceps* poisoning in a canteen. *Journal Clinical Toxicology*. 2018. V. 56. № 5. <https://doi.org/10.1080/15563650.2017.1388386>
- Xue J.H., Wu P., Chi Yu.L. et al. Cyclopeptides from *Amanita exitialis*. *Notes Products Bioprospect*. 2011. № 1. P. 53–56.
- Yang Y.-B., Hu J.-S., Chen Z.-H. et al. Amatoxins from *Amanita fuliginea*. *Natural Product Research and Development*. 2003. V. 5.
- Zhang P., Chen Z.-H., Hu J.-S. et al. Production and characterization of amanitin toxins from a pure culture of *Amanita exitialis*. *FEMS Microbiology Letters*. 2005. V. 252. P. 223–228.
- Zhang P., Chen Z.-H., Xiao B. et al. Lethal amanitas of East Asia characterized by morphological and molecular data. *Fungal Diversity*. 2010. V. 42. P. 119–133.
- Zhong J.-J., Xiao J.-H. Secondary metabolites from higher fungi: discovery, bioactivity, and bioproduction, *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*. 2009. V. 113. P. 79–150. https://doi.org/10.1007/10_2008_26
- Zhou Z.Z., Li S., Li C. et al. Studies on *Amanita fuliginea* and its toxicity. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Normalis Hunanensis. J. Nat. Sci. Hunan Normal University*. 1997.
- Белова Н.В. (Belova) Серосодержащие соединения в плодовых телах макромицетов // Микология и фитопатология. 2011. Т. 15. № 3. С. 201–208.
- Белова Н.В., Змитрович И.В. (Belova, Zmitrovich) Органополисульфиды макромицетов: химия, экологическая роль и биологическая активность // Современная микология в России. 2020. Т. 8. Материалы 4-го Международного микологического форума. М.: Национальная академия микологии, 2020. 460 с.
- Белова Н.В., Сазанова К.В., Шаварда А.Л. (Belova et al.) Метаболомный анализ мицелия и плодовых тел *Mycetinis alliaceus* (Jacq.) Earle ex A.W. Wilson et Desjardin // Микология и фитопатология. 2015. Т. 49. № 5. С. 305–312.
- Гуревич Л.С., Журкович И.К. (Gurevich, Zhurkovich) Токсины некоторых видов рода *Amanita* Pers. // Микология и фитопатология. 1995. Т. 29. № 1. С. 41–50.
- Кияшко А.А. (Kiyashko) Слово о поганках // Планета грибов. Научно-популярный журнал Санкт-Петербургского микологического общества. 2015. Т. 1. № 7. С. 27–42.
- Мусселиус С.Г., Рык А.А. (Musselius, Ryk) Отравления грибами. М., 2002. 324 с.
- Псурцева Н.В., Шахова Н.В. (Psurtseva, Shakhova) Ростовые и морфологические особенности штаммов *Galerina marginata* (Batsch) Kühner, продуцирующих циклические пептиды, в условиях поверхностного и глубинного культивирования // Современная микология в России. 2015. Т. 5. С. 345–347.

Sulfur-Containing Aromatic Compounds, Toxins and Pharmacologically Active Metabolites of Macromycetes

N. V. Belova^{a,#} and N. V. Psurtseva^{a,##}

^a Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

[#] e-mail: cultures@mail.ru

^{##} e-mail: nadyapsu@mail.ru

The paper deals with S-containing compounds involved in the creation of odor, toxic properties and medical value of macromycetes. Data on the chemical structure and biological activity of organosulfides, cyclic peptides, ergothioneine and S-containing polysaccharides are analyzed. Macromycete species containing sulfides, toxins and ergothioneine are presented.

Keywords: biological activity, cyclic peptides, ergothioneine, macromycetes, odors, organosulfides, S-polysaccharides, toxins

БИОРАЗНООБРАЗИЕ, СИСТЕМАТИКА,
ЭКОЛОГИЯ

УДК 581.557.24 : 582.685.4(470.23–25)

МИКОРИЗА ЛИПЫ (*TILIA* SPP.) В ИСКУССТВЕННЫХ
НАСАЖДЕНИЯХ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

© 2021 г. В. А. Дудка^{1,*}, Е. Ф. Малышева^{1,**}, В. Ф. Малышева^{1,***}, Е. А. Жукова^{2,****}

¹ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, 197376 Санкт-Петербург, Россия

² Государственный Русский музей, 191186 Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: VDudka@binran.ru

**e-mail: e_malysheva@binran.ru

***e-mail: v_malysheva@binran.ru

****e-mail: ealukmazova@mail.ru

Поступила в редакцию 14.05.2020 г.

После доработки 15.08.2020 г.

Принята к публикации 19.11.2020 г.

Данное исследование посвящено изучению особенностей микоризы трех видов липы (*Tilia cordata*, *T. platyphyllos* и *T. ×europaea*) в условиях городской среды на территории г. Санкт-Петербурга. Исследование проводилось на трех модельных территориях: Летний сад, Ботанический сад и Дудергофские высоты. В ходе исследования были получены данные по морфологии, анатомии микоризы, молекулярной идентификации грибных симбионтов, оценено влияние некоторых показателей почвы на состав эктомикоризных грибов (ЭМГ). Методом световой микроскопии была подтверждена характерная для рода *Tilia* двойная микоризная колонизация: арбускулярная микориза (АМ) и эктомикориза (ЭМ). У всех исследуемых деревьев корневые окончания имели интенсивную микоризную колонизацию. Показатели ЭМ-колонизации менялись в зависимости от вида липы и лишь незначительно от сезона и места выявления, тогда как показатели колонизации корней АМ менялись от сезона, места выявления и вида липы. У некоторых исследуемых деревьев было обнаружено наличие тонких несептированных эндوفитов. Для молекулярной идентификации симбионтов на корневых окончаниях липы использовали участок ITS-региона ядерной ДНК. Было выявлено 58 таксонов, относящихся к ЭМГ. Основными эктомикоризными симбионтами, выявленными для *Tilia*, являются базидиомицеты из родов *Inocybe*, *Tomentella*, *Sebacina* и *Entoloma* и аскомицеты из родов *Tuber* и *Peziza*. Среди выявленных таксонов ЭМГ впервые отмечены: для *Tilia cordata* 13 таксонов, для *T. platyphyllos* — 12, для *T. ×europaea* — 8. Таксономическое разнообразие ЭМГ изменялось в зависимости от вида липы, сезона и места произрастания деревьев. Для изучения влияния почвенных параметров на состав ЭМГ-сообществ был проведен анализ почвы на содержание нитратного азота (NO_3^-) и подвижного фосфора (P_2O_5) и установлено значение pH. Среди исследованных параметров на состав ЭМГ влияет изменение концентрации подвижного фосфора и нитратного азота, а повышение pH почвы ведет к обеднению разнообразия ЭМГ.

Ключевые слова: арбускулярная микориза, разнообразие симбионтов, эктомикориза, ITS

DOI: 10.31857/S0026364821010050

ВВЕДЕНИЕ

Микоризный симбиоз широко распространен практически во всех наземных экосистемах. Около 90% всех ныне живущих растений образуют симбиоз с грибами (Brundrett, Tedersoo, 2018). Однако большинство исследований, посвященных микоризному симбиозу, проводится в горшечных культурах. Такие исследования не отражают всех аспектов микоризного симбиоза, а затрагивают лишь отдельные изолированные факторы. Исследования в естественной среде проводить значительно сложнее. Эти трудности связаны с тем, что большое количество факторов, как биотических, так и абиотических, одновременно влияет на фор-

мирование и функционирование ассоциативных связей между грибом и растением. Несмотря на эти сложности, исследования микоризного симбиоза в естественной среде обитания позволяют лучше оценить вклад микоризы в развитие отдельного растения или сообщества в целом.

Городская среда является агрессивным биомом для всех живых организмов (Kuhns, 1980). Чем крупнее город, тем сильнее сказывается это на городской среде. Не все живые организмы способны существовать в таких условиях. В первую очередь, это касается неподвижных живых организмов, таких как растения и грибы. Сильная загазованность, повышенное содержание пыли в воздухе, вытаптывание верхних горизонтов почвы, быст-

рая испаряемость влаги и т.д. угнетают состояние и сокращают срок жизни растения. В крупных населенных пунктах для озеленения и благоустройства стараются высаживать наиболее устойчивые к таким факторам растения. Одним из наиболее устойчивых к городским условиям растений является липа (*Tilia* spp.).

Изучение функционирования микоризного симбиоза в городских условиях позволяет прогнозировать состояние искусственных растительных насаждений. Манипулируя условиями среды посредством внесения специфичного инокулюма, изменения водного режима и минерального питания можно добиться здорового и устойчивого состояния зеленых насаждений на территории города (Chilvers et al., 1987).

Интерес к исследованию микоризы липы возник не так давно. И связано это, скорее всего, с тем, что липа является деревом второго яруса и на протяжении всего своего ареала не образует крупных сообществ, а потому не вызвала долгое время интереса среди ботаников. Но уже на основе первых работ стало ясно, что липа образует микоризу с широким спектром эктомикоризных грибов (ЭМГ). А последние работы (Timonen, Kauppinen, 2008; Pigott, 2012) показали наличие у липы двойной колонизации — арбускулярной микоризой (АМ) и эктомикоризой (ЭМ).

Следует подчеркнуть, что изучение микоризного статуса липы в глобальном масштабе происходит неравномерно. В большей степени исследован вид *T. cordata* (Buseti, 1962; Ceruti, Busetti, 1962; Pigott, 1982; Nielsen, Rasmussen, 1999; Weissenhorn, 2002; Timonen, Kauppinen, 2008; Fini et al., 2011; Lang et al., 2011; Dudka et al., 2018a; Dudka, 2018b) и имеются некоторые единичные исследования, посвященные различным аспектам микоризы у других видов: *T. platyphyllos* (Lang et al., 2011), *T. tomentosa* (Garbaye, Churin, 1996), *T. americana* (Giomaro et al., 2002), *T. manschurica* (Guo et al., 2008) и *T. ×europaea* (Timonen, Kauppinen, 2008).

Многие из этих исследований освещали лишь практические аспекты проблемы микоризы липы. Например, показано, что введение искусственного инокулюма ЭМ-симбионтов положительно влияло на рост и вегетацию *T. tomentosa* (Garbaye, Churin, 1996). В другой работе, связанной с выявлением роли микоризы, показана повышенная устойчивость колонизированных ЭМГ-саженцев *T. cordata* к засолению почвы по сравнению с немикоризованным контролем (Weissenhorn, 2002). Также в работе Fini et al. (2011) было показано влияние симбионтов *Glomus mossae* (АМ) и *Boletus edulis* (ЭМ) на устойчивость саженцев липы к засухе и повышение фотосинтетической активности растения по сравнению с неинокулированными саженцами.

Эти исследования свидетельствуют о том, что микориза играет важную роль в жизни растения.

О важности внесения искусственного грибного инокулюма было известно давно. На данный момент такие биоудобрения обычно используют “универсальный” набор симбионтов широкого круга. Однако, зная круг специализированных симбионтов того или иного вида растения, можно повысить эффективность использования таких биоудобрений. Для решения подобных проблем необходимо обладать информацией и специальными знаниями о качественном составе и характеристике симбионтов той или иной древесной породы, но в настоящее время таких знаний накоплено недостаточно.

Род *Tilia* имеет двойную микоризную колонизацию — арбускулярной микоризой (АМ) и эктомикоризой (ЭМ). АМ формируется у саженцев липы в ранний период (20–30 дней после высаживания саженца в землю). После образования системы разветвленных боковых корней (в основном это происходит к лету, если саженец был посажен весной) наблюдается образование ЭМ (Pigott, 2012). У более взрослых особей липы наблюдается сезонное преобладание АМ весной, а ЭМ летом и осенью (Timonen, Kauppinen, 2008).

Несмотря на то, что род *Tilia* имеет смешанный тип микоризной колонизации, во всех исследованиях наибольшее внимание уделяется именно эктомикоризной составляющей, а вклад АМ явно недооценен. Так, например, совершенно не известны грибные симбионты, образующие АМ с *Tilia*, не исследовано их физиологическое значение в жизни дерева, что делает это направление исследований актуальным. Опираясь на доступные нам данные, лишь в одной работе был упомянут единственный АМ-симбионт, вступающий в контакт с липой — *Glomus mossae* (Fini et al., 2011).

Липа часто используется в озеленении. Древесина ее значительно ниже по ценности по сравнению с такими породами, как дуб, бук или сосна. Поэтому исследований, проведенных в естественных условиях произрастания липы, крайне мало. Одна из первых работ в этой области была посвящена изучению морфотипов ЭМ корневых окончаний липы на территории Дании (Nielsen, Rasmussen, 1999), еще одна подобная работа была проведена на территории Финляндии (Timonen, Kauppinen, 2008). В этих исследованиях было показано большое богатство ЭМГ липы в ее естественных местах обитания, как и значительное обеднение состава грибных симбионтов в городской среде.

Работы, связанные с выявлением ЭМ-партнеров молекулярными методами, которые на данный момент дают самую объективную информацию о круге симбионтов растения, пока еще малочисленны. В работе, о которой уже говорилось выше, проводимой на территории Финляндии (Timonen, Kauppinen, 2008), было выявлено в общей сложности 12 симбионтов для территории го-

рода, питомника и леса. Более масштабная работа по изучению микоризного статуса основных древесных пород проведена на территории Германии (Lang et al., 2011). В данной работе было выявлено 66 таксонов грибов для рода *Tilia*. К сожалению, в этих исследованиях авторы не разделяли между собой виды лип. Так, в первой работе получены обобщенные данные о *T. cordata* и *T. ×europaea*, а во второй — *T. cordata* и *T. platyphyllos*, что не дает возможности оценить видоспецифичность ЭМ-симбионтов для отдельных представителей *Tilia*.

Все полученные до нас данные свидетельствуют о том, что основными симбионтами *Tilia* являются в основном базидиомицеты из родов *Russula*, *Xerocomus*, *Inocybe*, *Amanita*, *Tomentella*, *Piloderma*, *Sebacina* и др., и некоторые аскомицеты из родов *Tuber*, *Peziza*, *Cenococcum* и др.

Данное исследование посвящено изучению некоторых аспектов микоризной колонизации различных видов рода *Tilia* в условиях искусственных насаждений на примере нескольких модельных территорий, расположенных в черте Санкт-Петербурга. В ходе исследования были поставлены следующие задачи: определить тип и степень микоризной колонизации видов липы в городских условиях; определить, изменяется ли микоризная стратегия растения в зависимости от сезона; на основании анализа участка ДНК корневых окончаний идентифицировать виды грибов, образующих эктомикоризу с *Tilia* spp.; определить, меняется ли состав сообществ ЭМГ в зависимости от вида липы и условий произрастания деревьев; определить, влияют ли почвенные условия (азот, фосфор, pH) на разнообразие ЭМ-симбионтов липы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Территория исследования. Исследование проводилось на трех модельных территориях, расположенных в черте Санкт-Петербурга: 1) Летний сад, 2) Ботанический сад Петра Великого БИН РАН и 3) Дудергофские высоты.

Летний сад — первый в Санкт-Петербурге регулярный сад, имеющий богатую 300-летнюю историю. За это время в саду менялась растительность и ландшафт парка при содействии не только человека, но и сил природы и моды в ландшафтной архитектуре. Летний сад располагается в центре города и является важной достопримечательностью, которую посещает ежегодно большое количество туристов и жителей города. В 2009–2011 гг. была проведена крупнейшая реставрация Летнего сада. Одной из ключевых задач при реконструкции было сохранение старовозрастных деревьев, большая часть которых принадлежит к роду *Tilia* (Melnikov, 2014). Во время реставрации неизбежно повреждались корни и для поддержания жизнеспособности деревьев использовались органические удобрения

и биофунгициды (Summer garden, 2012). Это не могло не повлиять на ризосферу.

Ботанический сад БИН РАН имеет историю, сравнимую с Летним садом. Располагается сад на территории Аптекарского острова. Дендрарий Ботанического сада более разнообразен по таксономическому составу по сравнению с Летним садом, что сближает его с естественным сообществом (Lapin, 1984).

Комплексный памятник природы “Дудергофские высоты” расположен в поселке Можайский Красносельского р-на г. Санкт-Петербурга. Высоты представляют собой две горы Ореховая и Воронья с уникальным геологическим строением. До XVI в. Дудергофские высоты были покрыты еловыми лесами. К XIX в. началось частичное осветление елового леса с последующей посадкой лиственных пород (дуб, ясень, липа и т.д.). Постепенно из-за осветления леса и частых вырубок площадь ельников стала сокращаться. После Великой Отечественной войны сильно изменился микрорельеф и состав растительного сообщества Дудергофских высот. На данный момент времени практически весь древостой Дудергофских высот является посадками, которые не прошли столетний возрастной рубеж (Volkova et al., 2006).

Объект исследования. По данным APG IV (Angiosperm Phylogeny Group, 2016) род *Tilia* входит в состав порядка *Malvales* семейства *Malvaceae* подсемейства *Tilioideae*. Исследование микоризного статуса рода *Tilia* проводилось на трех модельных видах, которые чаще остальных используют в озеленении Санкт-Петербурга: липа мелколистная (*T. cordata*), липа крупнолистная (*T. platyphyllos*) и широко распространенный гибрид *T. cordata* × *T. platyphyllos* — липа европейская (*T. ×europaea*).

Липа — долговечная порода древесных растений, большинство особей в естественной среде достигают 150-летнего возраста, иногда 500–800 лет. В городских условиях, особенно вдоль проезжих дорог и производств, срок жизни деревьев сокращается до 80–100 лет, но в садах и парках сохраняются и вековые деревья. Липа активно используется в озеленении городов, т.к. считается одной из наиболее теневыносливых и газоустойчивых пород древесных растений, способна переживать периоды временного пересыхания и временного повышения грунтовых вод. Кроме того, *T. cordata* более толерантна к низким температурам по сравнению с *Quercus robur*. Однако у липы есть свои недостатки, например, деревья не выносят слишком сухих и засоленных почв (Vasilyev, 1958; Pigott, 1991; Pigott, 2012).

Tilia cordata, *T. ×europaea* и *T. platyphyllos* широко представлены в озеленении городов России и Европы. Липы используют для создания аллей, скверов и регулярных садов в городах. Липа ценится в ландшафтной архитектуре как растение с красивым габитусом, легко поддающимся форми-

Таблица 1. Схема отбора проб

Вид	Возраст	№ дерева
Летний сад		
<i>Tilia cordata</i>	>15 лет	Shp
<i>T. cordata</i>	>60 лет	128
<i>T. cordata</i>	40–100 лет	25
<i>T. cordata</i>	>100 лет	51
<i>T. cordata</i>	200–300 лет	27
<i>T. ×europaea</i>	40–100 лет	35
<i>T. ×europaea</i>	40–100 лет	129
<i>T. ×europaea</i>	>100 лет	90
<i>T. ×europaea</i>	>200 лет	85
<i>T. platyphyllos</i>	40–100 лет	118
<i>T. platyphyllos</i>	40–100 лет	11
<i>T. platyphyllos</i>	>100 лет	78
<i>T. platyphyllos</i>	около 200 лет	77
Ботанический сад Петра Великого		
<i>T. cordata</i>	40–100 лет	2
<i>T. cordata</i>	40–100 лет	1PP*
<i>T. cordata</i>	>100 лет	32
<i>T. cordata</i>	>100 лет	2PP*
<i>T. ×europaea</i>	40–100 лет	4
<i>T. ×europaea</i>	>100 лет	1
<i>T. platyphyllos</i>	40–100 лет	3
<i>T. platyphyllos</i>	>100 лет	15
Дудергофские высоты		
<i>T. cordata</i>	<50 лет	1D
<i>T. cordata</i>	<30 лет	2D
<i>T. cordata</i>	около 80 лет	3D

Примечание. *Деревья, расположенные на территории, прилегающей к Ботаническому саду БИН РАН со стороны улицы Профессора Попова.

рованию, как древесная порода, сочетающая прочность и устойчивость к гниению. Стоит отметить, что липа, может играть важную роль в поддержании и улучшении плодородия почвы, и уже давно признана лесниками как порода с таким потенциалом (Pigott, 2012).

На модельных территориях были отобраны для исследования в общей сложности 24 дерева разного возраста и состояния (табл. 1). В Летнем саду: 13 деревьев (из них 5 – *T. cordata*, 4 – *T. platyphyllos*, и 4 – *T. ×europaea*); в Ботаническом саду: 8 деревьев (из них 4 – *T. cordata*, 2 – *T. platyphyllos*, и 2 – *T. ×europaea*); на Дудергофских высотах: 3 дерева (*T. cordata*). На территории Летнего сада микоризные окончания отбирались у деревьев, расположенных как в боскетах (огороженные участки сада), так и на аллеях в возрасте от 20 до 200 лет. В Ботаническом саду БИН РАН отбор проб у дере-

вьев был как на территории самого сада, так и на прилегающей к саду территории со стороны улицы Профессора Попова.

Отбор проб микоризных окончаний. Отбор микоризных корневых окончаний исследуемых деревьев проводили в сентябре 2017 г. и в мае 2018 г. Отбор проб осуществлялся по ранее описанным методикам (Ishida et al., 2007; Timonen, Kauppinen, 2008; Smith, Smith, 2011).

Корневые окончания отбирали в проекции кроны каждого дерева, с двух противоположных сторон от ствола дерева, на расстоянии 15–30 см и на глубине 10 см. Однако, в случае с деревьями, расположенными на аллее Летнего сада, корневые окончания располагались на глубине от 15 до 30 см. Перед выкапыванием корней с места сбора удаляли верхний слой с надпочвенной растительностью и неразложившимися органическими остатками. После этого аккуратно удаляли излишки почвы, а корни помещали в пластиковый пакет и транспортировали в лабораторию, где они хранились при –20°C до проведения анализа.

Морфологический анализ микоризных окончаний. Морфологический анализ и визуальная оценка степени микоризной колонизации корневых окончаний проводили по методике Trouvelot et al. (1986) с некоторыми модификациями (Koske, Gemma, 1989; Giomaro et al., 2002).

Образцы корневых окончаний, отобранные в проекции кроны одного дерева, в дальнейшем учитывались как один образец. Корни аккуратно и тщательно отмывали от почвы. Отмытые образцы корневых окончаний нарезали на фрагменты ≈1 см дл. и помещали в емкость с водой. На следующем этапе случайным образом из емкости отбирали 30 фрагментов для анализа.

Отобранные фрагменты просматривали под биноклем и разделяли на две части: первая часть – корневые окончания с ЭМ, вторая часть – корневые окончания с АМ. Эктомикоризные окончания отбирали для дальнейшего молекулярного исследования ДНК. Для этого их просматривали под биноклем на предмет наличия плотного, живого мицелиального чехла.

Корневые окончания, которые были колонизированы арбускулярной микоризой, подвергали дополнительным этапам обработки – обесцвечивания и окрашивания для определения степени колонизации грибами. На этапе обесцвечивания образцы помещали в 10%-м КОН в термостат на 3–4 ч и нагревались до температуры 95°C. После этого их интенсивно промывали в воде и дополнительно обесцвечивались выдерживанием в аммиачном растворе H₂O₂ по методике (Koske, Gemma, 1989) с некоторыми модификациями, а затем окрашивались Cotton Blue (Giomaro et al., 2002) для последующего микроскопирования и определения степени АМ колонизации. Арбускулярная

микориза в данной работе оценивалась только визуально, по микроморфологическим критериям. Идентификация грибных симбионтов, образующих арбускулярную микоризу, молекулярными методами не проводилась.

Для каждого дерева было проанализировано приблизительно 50–60 см микоризных окончаний. Микоризная колонизация обоих типов (ЭМ и АМ) одновременно оценивалась для каждого анализируемого образца с помощью методов световой микроскопии. Статистические параметры рассчитывали согласно методике, предложенной Trouvelot et al. (1986) с некоторыми модификациями.

Все первичные данные заносили в таблицы и затем анализировали с помощью программы Mycocalc (<http://www2.dijon.inra.fr/mychintec/Mycocalc-prg/download.html>).

Молекулярно-генетический анализ. Отобранные образцы эктомикоризных корневых окончаний помещали в 1.5-миллилитровые пробирки с 150 мкл лизирующего буфера (на основе 2%-го СТАВ). Выделение ДНК из образцов, хранящихся в 2%-м СТАВ-буфере, производили с использованием коммерческих наборов NucleoSpin Plant II Kit (Macherey-Nagel GmbH and Co. KG) и Animal and Fungi DNA Preparation Kit (Jena Bioscience) согласно прилагаемым инструкциям. Для амплификации, а также секвенирования участка ITS1–5.8S–ITS2 яДНК, использовали пару праймеров ITS1F–ITS4 (Gardes, Bruns, 1993). Амплификацию проводили с применением стандартных для использованных праймеров протоколов ПЦР (White et al., 1990). Очистку продуктов ПЦР производили с помощью наборов Fermentas Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific). Секвенирование осуществляли на автоматическом анализаторе нуклеиновых кислот ABI model 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) с последующей обработкой полученных данных в программе MEGA X (Kumar et al., 2018).

Идентификацию таксонов ЭМГ, выделенных исключительно из микоризных окончаний, до видового, родового и выше уровня производили с использованием алгоритма сравнения гомологичных последовательностей BlastN с ресурсами доступных баз данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) и UNITE (<http://unite.ut.ee/>). В анализ вовлекались лишь последовательности, отвечающие требованиям хорошего качества и не содержащие ПЦР-химер (Nilsson et al., 2012). Для определения границ изучаемых таксонов (ОТЕ) принимали установленный для ITS грибов нижний порог (threshold или cutoff value), равный 97–98% (Smith et al., 2013; Kõljalg et al., 2013). Идентифицированным таким образом таксонам затем присваивали статус микоризообразователей, либо сапротрофов, либо эндофитов исходя из наиболее полной на данный момент классификации грибов

с эктомикоризной жизненной стратегией (Teder-soo et al., 2010).

Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью программы Muscle (встроенной в MEGA X) (Kumar et al., 2018), использующей алгоритм множественного выравнивания. Филогенетические деревья были построены с помощью метода максимального правдоподобия (maximum likelihood – ML) в программе RAxML v.0.6.0 на соответствующем сервере в Интернете (<http://raxml-ng.vital-it.ch/#/>). Предварительно была протестирована эволюционная модель отдельно для двух независимых наборов данных ITS (для *Basidiomycota* и *Ascomycota*) с помощью Akaike Information Criterion (AIC) на FindModel веб-сервере в Интернете (<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/findmodel/findmodel.html>). Для обоих наборов данных была выбрана одинаковая модель эволюции нуклеотидных последовательностей (GTR model).

Химический анализ почвы. Отбор образцов почвы осуществляли на всех модельных территориях в непосредственной близости от исследуемых деревьев: пять точек для Летнего сада, четыре в Ботаническом саду, две точки на Дудергофских высотах. Отбор проб почвы осуществляли на уровне, соответствующем отбору корневых окончаний, т.е. на глубине 10–15 см. После отбора пробы транспортировали в лабораторию. Пробы были проанализированы специалистами Санкт-Петербургского государственного лесотехнического университета им. С.М. Кирова. Анализ почвы проводился по следующим параметрам: азот нитратный (NO_3^-), фосфор подвижный (P_2O_5) и pH. Данные параметры были измерены фотометрическим методом с протоколами измерений ПНД Ф 16.1:2.2:2.3.67–10 для азота нитратного (NO_3 ГОСТ Р 54650) и для фосфора подвижного (P_2O_5). Фотометрический метод с соответствующими протоколами проводился на спектрофотометре ПЭ-5300В и фотометре фотоэлектрическом КФК-3. Измерение pH почвы проводилось на Hanna Instruments pH Meter 211 в лаборатории биохимии грибов БИН РАН по соответствующей методике (McLean, 1982).

Статистическая обработка данных. Статистическая оценка данных была выполнена с помощью языка программирования R 3.3.3 (R Core Team, 2012) в программной среде RStudio 1.0.136 (RStudio Team, 2017). Для измерения общей изменчивости данных использовался метод анализа главных компонентов с помощью пакета “vegan” (Oksanen et al., 2018). Все графики визуализированы с помощью пакета “ggplot2” (Wickham, 2009).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты морфологического анализа микоризных окончаний *Tilia* spp. В исследуемых срезах кор-

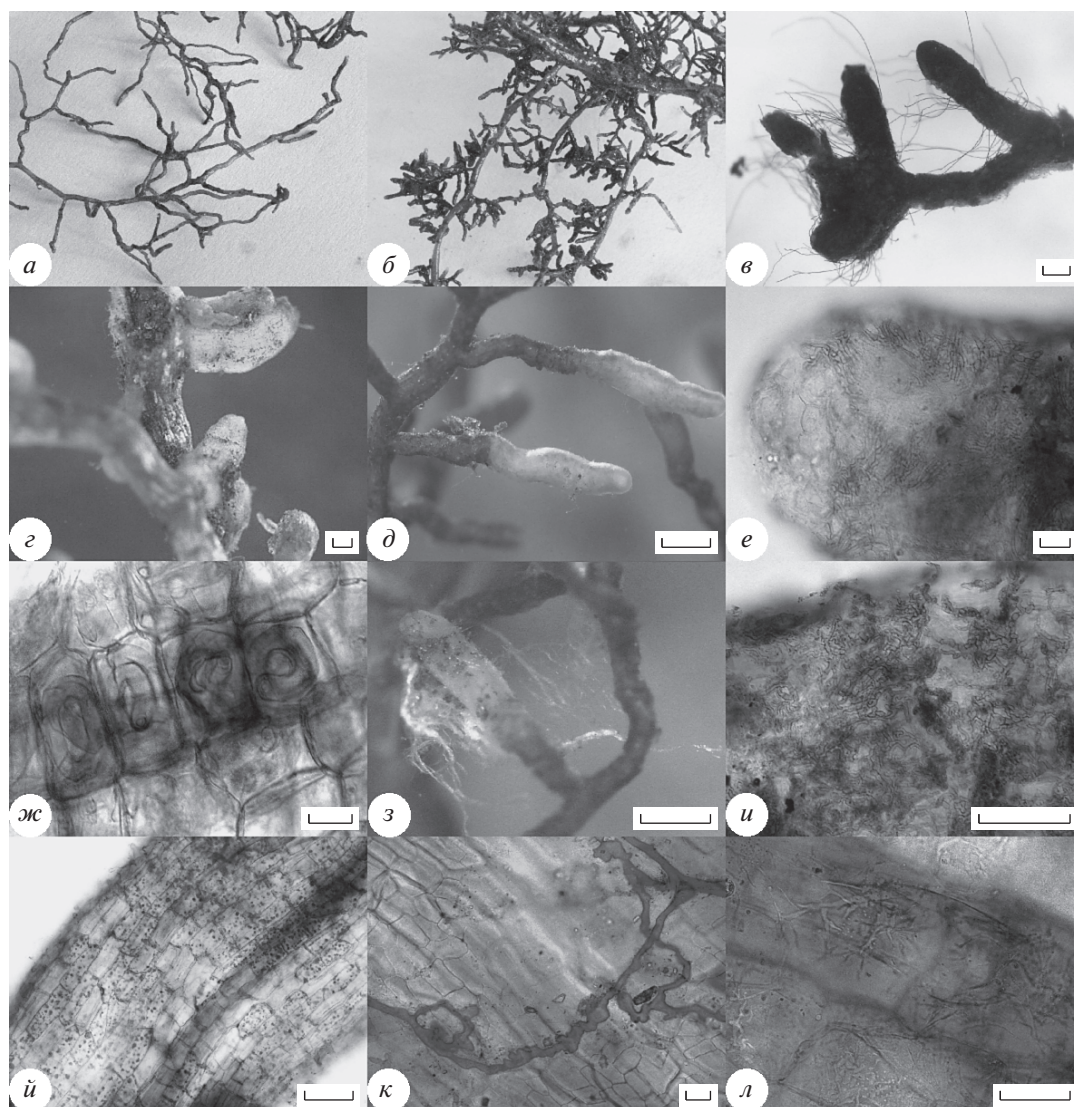


Рис. 1. Общий вид корневых окончаний липы, колонизированных ЭМГ и АМГ: *а* – корневые окончания, колонизированные АМГ; *б* – корневые окончания, колонизированные ЭМГ; *в* – плотный черный микоризный чехол и мощные черные ризоморфы *Cenococcium geophilum*, увеличение 500 мкм; *г* – микоризные окончания с АМ, увеличение 200 мкм; *д* – эктомикоризные окончания, увеличение 500 мкм.; *е* – общий вид мицелиального чехла на поверхности кончика корня, увеличение 20 мкм; *ж* – гифальные клубки в клетках ризодермы корня, увеличение 20 мкм.; *з* – плотный, светло-коричневый мицелиальный чехол с отходящим свободным мицелием, увеличение 500 мкм; *и* – фрагмент мицелиального чехла, увеличение 50 мкм.; *й* – клетки коры корня с массовым развитием внутриклеточных везикулоподобных структур, увеличение 100 мкм; *к* – фрагмент свободного несептированного мицелия на поверхности корня липы, увеличение 20 мкм; *л* – клетки коры корня с разветвленной в межклетниках мицелиальной сетью, увеличение 20 мкм.

невых окончаний *T. cordata*, *T. platyphyllos* и *T. ×europaea* наблюдалась двойная АМ- и ЭМ-колонизация. Ранее уже было известно о смешанном типе микоризной колонизации для рода *Tilia* в целом (Pigott, 2012). Однако, для *T. platyphyllos* и *T. ×europaea* до наших исследований отмечалась лишь ЭМ-колонизация (Wang, Qiu, 2006).

Корневые окончания, колонизированные АМ-симбионтом, характеризовались слабым ветвле-

нием, светло-коричневым цветом, наличием редких корневых волосков (рис. 1, *а*, *г*). Имелся свободный несептированный мицелий (рис. 1, *к*), внутрикорневые структуры были представлены межклеточным мицелием и внутриклеточными структурами, а именно гифальными клубками (рис. 1, *ж*) и разветвленным мицелием внутри клеток. Типичные для арбускулярной микоризы структуры – арбускулы и везикулы – не были встречены.

Наряду с характерными для АМ признаками, в ряде корней нами был обнаружен интересный микоризный морфотип, очень сходный (но не идентичный) с описанным совсем недавно при исследовании взаимодействий гломусовых грибов и тропического растения *Alzatea verticillata* в Эквадоре (Beck et al., 2005; Beck et al., 2007). Характерными морфологическими особенностями наблюдаемого нами типа микоризы у липы явились: чрезвычайно тонкие, древовидно- и веерообразно-разветвленные гифальные структуры, расположенные в межклетниках и густо оплетающие клетки кортикального слоя корня (рис. 1, л), развитые аппрессории, внутриклеточные гифальные клубки, а также развитая внутриклеточная несептированная мицелиальная сеть с многочисленными вздутыми “узлами”, напоминающими везикулы, но значительно более мелкими по размеру (рис. 1, й).

Следует подчеркнуть, что подобные морфологические структуры ранее наблюдались у некоторых тропических растений и приписывались так называемым “тонким эндофитам” (fine endophytes) (Hall, 1977; Dodd et al., 2000). Лишь недавние молекулярные исследования показали принадлежность большинства “тонких эндофитов” к разным родам гломусовых грибов, а именно *Glomus*, *Acaulospora* и *Gigaspora* (Beck et al., 2007). Также из последних работ стоит отметить, что подобными морфологическими особенностями строения обладают представители недавно выделенной группы грибов из “тонких корневых эндофитов” — *Planticonsortium* (Greenall) C. Walker et D. Redecker, которые выполняют сходные с АМГ функции (Beck et al., 2005; Beck et al., 2007; Strullu-Derrien et al., 2016; Orchard et al., 2017; Walker et al., 2018a, 2018b).

Отличием наблюдаемого нами морфотипа от всех известных морфотипов АМ явилось полное отсутствие арбускул и типичных везикул. Таким образом, можно с уверенностью сказать, что подобная морфолого-функциональная структура микоризы у древесных растений умеренного климата отмечается нами впервые.

Корневые окончания, колонизированные ЭМ-симбионтами, характеризовались сильным ветвлением, различной окраской — от светло-желтого, красного до темно-коричневого и угольно-черного (рис. 1, б, д), наличием мицелиального чехла (рис. 1, е, и) и отходящих от него ризоморф или свободного мицелия (рис. 1, з, в).

Всего в ходе работы проанализировано 1440 корневых окончаний. У исследуемых лип в целом преобладает ЭМ-колонизация. Корневые окончания, ассоциированные с АМ, встречаются значительно реже и лишь у немногих деревьев имеют высокую встречаемость.

Показатель общей частоты встречаемости микоризы в корневой системе растения [$F(\%)$] (общее количество колонизированных фрагментов

корня на число выборки) имел достаточно высокие значения и варьировал от 20 до 100% (табл. 2). Таким образом, все исследованные деревья были в достаточной степени колонизированы микоризой. Наиболее вариабельным и информативным параметром является интенсивность микоризной колонизации [степень колонизации корня на число выборки $M(\%)$].

Среди исследуемых видов лип наибольший процент колонизации корня ЭМ [$M(\%)$] был у *T. xeuropaea* (рис. 2, а, б). В целом, для липы европейской в данном исследовании не наблюдалась арбускулярная микориза. Однако весной был обнаружен небольшой процент колонизации корня АМ — менее 1% (рис. 2, б). ЭМ-колонизация остальных двух видов *T. cordata* и *T. platyphyllos* была ниже, но вклад арбускулярной микоризы был значительно выше по сравнению с *T. xeuropaea* (рис. 2, а). Такое распределение микоризной колонизации для гибрида некоторые исследователи связывают с тем, что генотип растения влияет на выбор микоризной стратегии (Timonen, Kauppinen, 2008; Bainard et al., 2011; Tyburska et al., 2013). Весной наблюдалось значительное увеличение колонизации корней арбускулярной микоризой для *T. cordata* и *T. platyphyllos* (рис. 2, б).

Среди исследуемых модельных территорий ЭМ-колонизация была выше в Ботаническом саду, как весной, так и осенью (рис. 3, а, б). Высокие показатели АМ-колонизации были на территории Дудергофских высот (рис. 3, а). Сезонные изменения ЭМ-колонизации среди исследуемых деревьев, в зависимости от модельных территорий, незначительны (рис. 3, а, б). А показатели АМ-колонизации лип на исследуемых территориях были выше весной по сравнению с осенним периодом (рис. 3, б). Сезонные изменения в АМ-колонизации отмечались ранее не только у липы, но и у других древесных пород, например у тополей (Bainard et al., 2011; Tyburska et al., 2013). И этот факт связывают с тем, что деревья способны менять микоризную стратегию в зависимости от условий окружающей среды. И возможно, что грибы арбускулярной микоризы менее требовательны к количеству получаемого углерода от растения, что энергетически более выгодно для растений весной (Smith, Read, 2008).

Высокая степень ЭМ-колонизации в Ботаническом саду БИН РАН, скорее всего, свидетельствует о наличии большого количества пропагул грибов для колонизации корня от деревьев других систематических групп, которые произрастают на территории сада, что отражается, в свою очередь, на более высоком разнообразии выявленных грибных таксонов.

Небольшой процент колонизации корней липы в Летнем саду, по сравнению с другими модельными территориями, может быть связан с большим влиянием городской среды. Данная тер-

Таблица 2. Показатели микоризной колонизации *Tilia* spp.

Номер дерева	Численные показатели микоризной колонизации (в %)						
	<i>F</i>	<i>M</i> (ЭМ)	<i>m</i> (ЭМ)	<i>M</i> (АМ)	<i>m</i> (АМ)	<i>V</i> (АМ)	<i>v</i> (АМ)
Осенний период							
35	100	79.73	79.73	—	—	—	—
129	100	95.00	95.00	—	—	—	—
90	100	71.93	71.93	—	—	—	—
85	86.66	57.60	66.46	—	—	—	—
Shp	20	15.83	95	3.16	95.00	0.31	10.10
128	86.66	73.20	84.46	—	—	—	—
25	96.66	89.33	92.41	—	—	—	—
51	60	0.03	1.0	19.40	34.23	16.64	85.77
27	100	89.83	89.83	—	—	—	—
118	100	19.16	82.14	20.66	26.95	2.14	10.37
11	93.33	30.53	48.21	28.36	94.55	21.35	75.31
78	100	—	—	1.00	1.00	0.10	10.10
77	93.33	60.23	64.53	—	—	—	—
4	100	92.00	92.00	—	—	—	—
1	100	85.5	85.53	—	—	—	—
2	90	84.66	94.07	—	—	—	—
1PP	100	22.16	95.00	25.16	32.82	9.70	38.58
32	100	95.00	95.00	—	—	—	—
2PP	100	90.83	90.83	—	—	—	—
3	96.66	91.83	95.00	—	—	—	—
15	100	38.36	76.73	38.16	76.33	35.72	93.62
1D	100	69.86	87.33	8.16	40.83	4.09	50.24
2D	100	95.00	95.00	—	—	—	—
3D	100	9.70	58.2	61.50	73.80	61.50	100
Весенний период							
35	100	41.50	83.00	5.83	11.66	2.93	50.3
129	100	95.00	95.00	—	—	—	—
90	96.66	91.83	95.00	—	—	—	—
85	100	79.66	79.66	—	—	—	—
Shp	100	33.16	90.45	50.5	79.73	20.71	41.02
128	100	94.16	94.16	—	—	—	—
25	100	46.33	86.87	34.16	73.21	13.62	39.89
51	100	—	—	81.33	81.33	69.69	85.70
27	100	95.00	95.00	—	—	—	—
118	100	19.00	95.00	42.03	52.54	24.15	57.48
11	100	31.66	95.00	36.33	54.50	23.99	66.05
78	100	63.33	95.00	10.00	30.00	05.03	50.33
77	96.66	91.83	95.00	—	—	—	—
4	100	95.00	95.00	—	—	—	—
1	100	95.00	95.00	—	—	—	—
2	100	95.00	95.00	—	—	—	—
1PP	100	19.00	95.00	48.96	61.20	20.86	42.61
32	93.33	88.66	95.00	—	—	—	—
2PP	100	95.00	95.00	—	—	—	—
3	100	95.00	95.00	—	—	—	—
15	100	19.00	95.00	76.00	95.00	76.00	100
1D	100	76.00	95.00	19.00	95.00	19.00	100
2D	100	82.33	95.00	12.66	95.00	12.66	100
3D	100	22.16	95.00	71.16	92.82	70.07	98.47

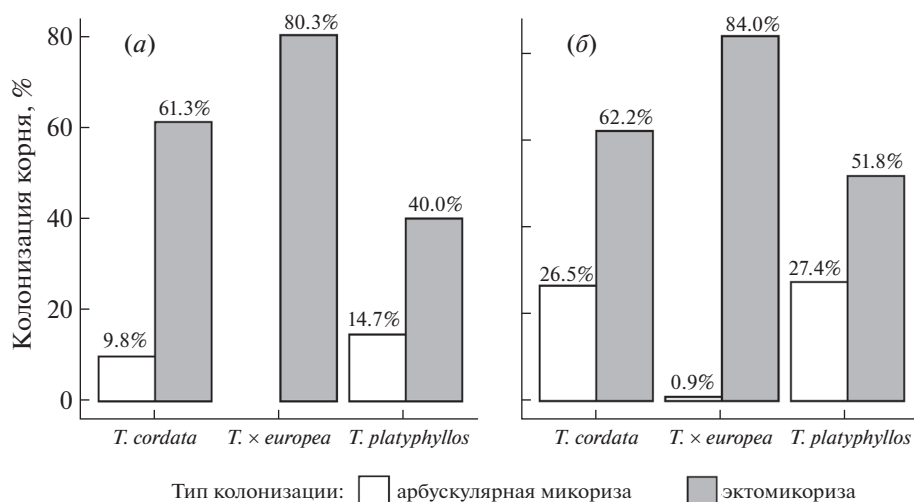


Рис. 2. Распределение интенсивности микоризной колонизации ($M\%$) в зависимости от вида липы: *a* — осенний период; *б* — весенний период.

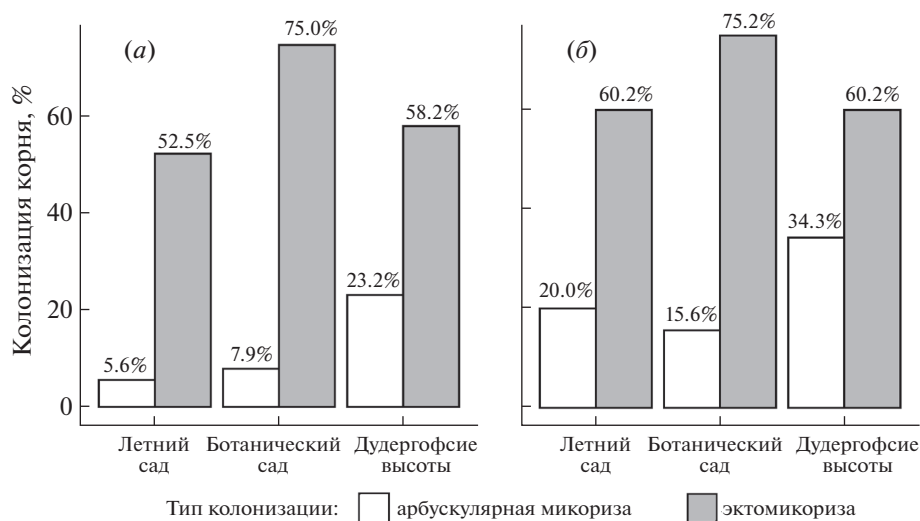


Рис. 3. Распределение интенсивности микоризной колонизации ($M\%$) у липы на модельных территориях: *a* — осенний период; *б* — весенний период.

ритория подвергается более интенсивной антропогенной нагрузке (Летний сад находится в центре города и является часто посещаемым туристическим объектом). Также на территории Летнего сада преобладают монотипные посадки лип.

Отдельно хотелось бы выделить вклад в ЭМ-колонизацию видового комплекса из сумчатых грибов *Seuconium geophilum*. Данный вид хорошо определяется морфологически и встречался практически у всех исследуемых деревьев. Достаточно высокий вклад в долю ЭМ-колонизации данного гриба наблюдался в весенний период (рис. 4, *б*) по сравнению с осенним (рис. 4, *а*). Наличие *S. geophilum* часто связывают с преодолением растением

воздействия многих неблагоприятных факторов среды, таких как недостаток воды, нехватка почвенного пространства и загрязнение ингибирующими рост веществами (Saleh-Rastin, 1976; Pigott, 1982; Jany et al., 2003; Gonçalves et al., 2009). Возможно, что сезонные причины массового развития данного вида гриба связаны с уменьшением энергетических затрат растения на поддержание грибного симбионта сходно с АМГ, поскольку *S. geophilum* образует небольшой мицелий и не плодоносит (Obase et al., 2017).

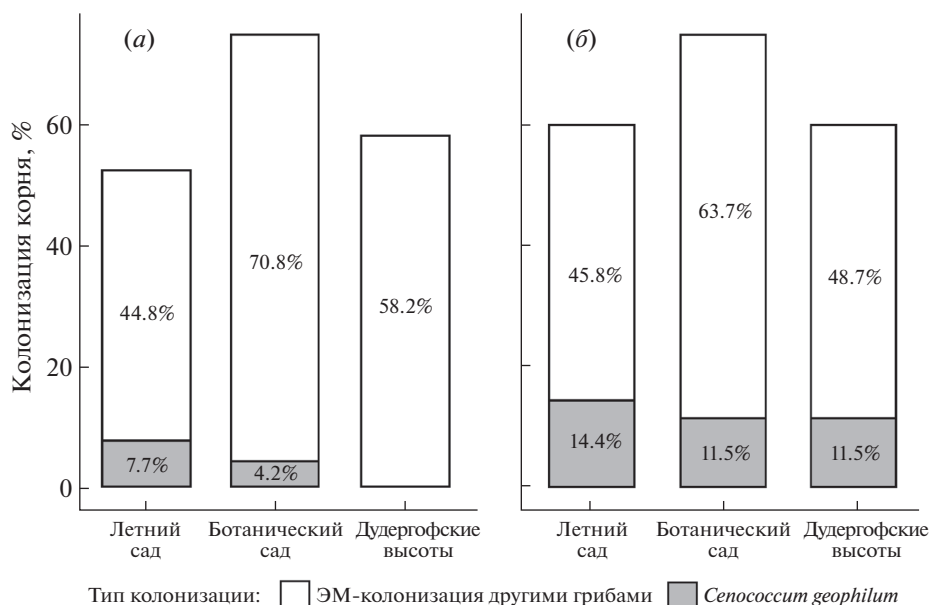


Рис. 4. Вклад *Cenococcum geophilum* (%) в ЭМ-колонизацию корня липы: а — осенний период; б — весенний период.

Результаты молекулярной идентификации эктомикоризных симбионтов *Tilia* spp. В ходе исследования для молекулярной идентификации в общей сложности было отобрано 500 (300 осенью и 200 весной) эктомикоризных корневых окончаний. Из 153 (104 отобранных осенью и 49 весной) образцов успешно выделена ДНК грибов, проведена амплификация и секвенирование ITS-региона (табл. 3).

Результаты идентификации нуклеотидных последовательностей, полученные с помощью алгоритма Blast, выявили присутствие в микоризных окончаниях различных видов липы 77 грибных таксонов или операционных таксономических единиц (ОТЕ). Большая часть ОТЕ была идентифицирована до видового (44), родового (28) уровня и выше (5) (рис. 5, 6). Лишь *C. geophilum* был определен на основе морфологических признаков. Общее число выявленных ЭМ-симбионтов, таким образом, составило 78 видов.

По числу таксонов преобладали базидиальные грибы (46 ОТЕ) из 8 порядков: *Agaricales* (23), *Thelephorales* (9), *Sebacinales* (5), *Polyporales* (3), *Cantharellales* (3), *Boletales* (1), *Trechisporales* (1), *Russulales* (1) (рис. 7) и 15 семейств: *Inocybaceae* (12), *Thelephoraceae* (9), *Entolomataceae* (5), *Sebacinaceae* (5), *Hydnangiaceae* (2), *Hymenogastraceae* (2), *Phanerochaetaceae* (2), *Clavulinaceae* (2), *Hydnodontaceae* (1), *Meripilaceae* (1), *Physalacriaceae* (1), *Russulaceae* (1), *Sclerodermataceae* (1), *Tricholomataceae* (1), *Tulasnellaceae* (1) (рис. 8).

Среди сумчатых грибов было выявлено 32 ОТЕ из 7 порядков: *Pezizales* (23), *Helotiales* (3), *Hypocreales* (2), *Mytilinidiales* (1), *Pleosporales* (1), *Sordaria-*

les (1), *incertae sedis* (1) (рис. 7), распределяющихся по 12 семействам: *Tuberaceae* (8), *Pezizaceae* (7), *Pyronemataceae* (6), *Helvellaceae* (2), *Hamatocanthoscyphaceae* (2), *Chaetomiaceae* (1), *Dictyosporiaceae* (1), *Gloniaceae* (1), *Hemiphacidiaceae* (1), *Muxotrichaceae* (1), *Nectriaceae* (1) *incertae sedis* (1) (рис. 8).

Среди выявленных 78 ОТЕ имелись представители разных экологических групп (рис. 9). Большая часть таксонов (58 ОТЕ) принадлежала к микоризообразователям, к сапротрофам было отнесено 13 таксонов: *Chaetomium* sp., *Flammulina velutipes*, *Heyderia abietis*, *Mycenella trachyspora*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete* sp., *Pseudodictyosporium wauense*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Sarocladium kiliense*, *Subulicystidium* sp., *Sepultariella semiimmersa*, *Xenopolyscytalum* sp. (Xen1) и *Xenopolyscytalum* sp. (Xen2). Из патогенов обнаружены два вида: *Corallomycetella repens*, *Grifola frondosa*.

Сравнение сообществ эктомикоризных грибов у изученных видов липы, связь с возрастом деревьев, сезоном и условиями произрастания. В общей сложности для исследованных лип был выявлен 21 род эктомикоризных грибов (рис. 9). Основными эктомикоризными симбионтами, выявленными для *Tilia*, являются базидиомицеты из родов *Inocybe* (12 таксонов), *Tomentella* (5), *Sebacina* (4), *Entoloma* (3), а из сумчатых грибов — *Tuber* (8) и *Peziza* (7).

Среди выявленных таксонов ЭМГ на корневых окончаниях липы впервые были отмечены для *T. cordata* (13 таксонов): *Inocybe decemgibbosa*, *I. griseovelata*, *I. nitidiuscula*, *I. posterula*, *I. pusio*, *Peziza depressa*, *Thelephora terrestris*, *Tomentella badia*, *Trichophaea woolhopeia*, *Tuber maculatum*, *T. rapaeodorum*, *T. scruposum*, *Tulasnella* sp.; для *Tilia platyphyllos*

Таблица 3. Полный список ОТЕ ЭМГ на корневых окончаниях липы, выявленных методом молекулярной идентификации

Номер дерева	Идентифицированные ОТЕ	Семейство	Порядок	Экологическая группа	Номер GenBank	Результат анализа BLAST		
						Идентичность (п.н.)	Сходство (%)	Номер GenBank или UNITE
Sph	<i>Clitopilus piperitus</i> (G. Stev.) Noordel. et Co-David <i>Peziza</i> sp. (Pez1) <i>Laccaria</i> sp. <i>Scleroderma areolatum</i> Ehrenb. <i>Helvella elastica</i> Bull. <i>Corallomycetella repens</i> (Berk. et Broome) Rossman et Samuels <i>Chaetomium</i> sp. <i>Trichophaea</i> sp. <i>Cenococcum geophilum</i> Fr. <i>Subulicystidium</i> sp. <i>Inocybe muricellata</i> Bres. <i>Phanerodontia chrysosporium</i> (Burd.) Hjortstam et Ryvarden <i>Cenococcum geophilum</i> <i>Helvellosebacina conrescens</i> (Sch- wein.) Oberw., Garnica et K. Riess <i>Tuber rufum</i> Pollini <i>Inocybe muricellata</i> <i>I. griseovelata</i> Kühner <i>Cenococcum geophilum</i> <i>Inocybe langei</i> R. Heim <i>Peziza ostracoderma</i> Korf <i>Sebacina</i> sp. (Seb1) <i>Peziza</i> sp. (Pez2) <i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Entolomataceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MG844978	721/723	99%	KJ681016
		<i>Pezizaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MG844981	322/347	93%	UDB032976
		<i>Hydnangiaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MG844980	321/336	96%	KU685652
		<i>Sclerodermataceae</i>	<i>Boletales</i>	ЭМ	MG844982	380/384	99%	KU878584
		<i>Helvellaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MG844979	495/501	99%	UDB018111
		<i>Nectriaceae</i>	<i>Hypocreales</i>	П	—	508/519	98%	LT576166
		<i>Chaetomiaceae</i>	<i>Sordariales</i>	СТ	—	469/503	93%	JX984785
		<i>Pyronemataceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554439	275/281	98%	MN653011.1
		<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
		<i>Hydnodontaceae</i>	<i>Trechisporales</i>	СП	—	519/573	91%	FJ820506
25	<i>Inocybe muricellata</i> Bres. <i>Phanerodontia chrysosporium</i> (Burd.) Hjortstam et Ryvarden	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MG844989	582/588	99%	AM882915
		<i>Phanerochaetaceae</i>	<i>Polyporales</i>	СП	—	476/478	99%	KX668574
27	<i>Cenococcum geophilum</i> <i>Helvellosebacina conrescens</i> (Sch- wein.) Oberw., Garnica et K. Riess	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
		<i>Sebacinaceae</i>	<i>Sebacinales</i>	ЭМ	MG844990	585/590	99%	JQ665516
35	<i>Tuber rufum</i> Pollini <i>Inocybe muricellata</i> <i>I. griseovelata</i> Kühner	<i>Tuberaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MG844993	626/635	99%	UDB027553
		<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MG844989	671/671	100%	UDB015359
		<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554411	212/216	98%	JF908237
77	<i>Cenococcum geophilum</i> <i>Inocybe langei</i> R. Heim <i>Peziza ostracoderma</i> Korf <i>Sebacina</i> sp. (Seb1) <i>Peziza</i> sp. (Pez2)	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
		<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554412	671/675	99%	UDB016069
		<i>Pezizaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554421	613/619	99%	UDB025636
		<i>Sebacinaceae</i>	<i>Sebacinales</i>	ЭМ	MT554426	224/230	97%	HQ154352
		<i>Pezizaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554422	605/617	98%	MH040302
	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		

Таблица 3. Продолжение

Номер дерева	Идентифицированные ОТЕ	Семейство	Порядок	Экологическая группа	Номер GenBank	Результат анализа BLAST		
						Идентичность (п.н.)	Сходство (%)	Номер GenBank или UNITE
85	<i>Tomentella ellisii</i> (Sacc.) Jülich et Stalpers	<i>Thelephoraceae</i>	<i>Thelephorales</i>	ЭМ	MT554434	462/465	99%	HQ406823
	<i>Inocybe decemgibbosa</i> (Kühner) Vauras	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554410	366/369	99%	JF908102
90	<i>I. muricellata</i>	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MG844989	679/680	99%	UDB015359
	<i>Peziza michelii</i> (Boud.) Dennis	<i>Pezizaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MG844983	584/584	100%	DQ200838
118	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Entoloma tiliae</i> Brandrud, O.V. Morozova, Dima, Bendiksen et Noordel.	<i>Entolomataceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554404	263/265	99%	KM576403
128	<i>Sebacina</i> sp. (Seb2)	<i>Sebacinaceae</i>	<i>Sebacinales</i>	ЭМ	MT554427	393/393	100%	MF352779
	<i>Peziza</i> sp. (Pez3)	<i>Pezizaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554441	210/218	96%	JF908562
129	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Tuber borchii</i> Vittad.	<i>Tuberaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MG844986	473/481	98%	UDB028214
1	<i>Peziza michelii</i>	<i>Pezizaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MG844983	626/626	100%	UDB032974
	<i>Mycenella trachyspora</i> (Rea) Bon	<i>Tricholomataceae</i>	<i>Agaricales</i>	СП	—	493/499	99%	UDB036599
2	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Pyronemataceae</i> (Pyr1)	<i>Pyronemataceae</i>	<i>Pezizales</i>	—	MT554423	583/590	99%	UDB028540
2	<i>Grifola frondosa</i> (Dicks.) Gray	<i>Grifolaceae</i>	<i>Polyporales</i>	П	—	319/330	97%	KT693235
	<i>Hebeloma celatum</i> Grilli, U. Eberh. et Beker	<i>Hymenogastreae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554406	387/390	99%	KX687194
2	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Peziza depressa</i> Pers.	<i>Pezizaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554420	565/569	99%	JF908539
2	<i>Russula pectinatoides</i> Peck	<i>Russulaceae</i>	<i>Russulales</i>	ЭМ	MT554425	663/665	99%	UDB019332
	<i>Balsamia platyspora</i> Berk.	<i>Helvellaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554399	685/687	99%	KP149498
2	<i>Flammulina velutipes</i> (Curtis) Singer	<i>Physalacriaceae</i>	<i>Agaricales</i>	СП	—	663/663	100%	KM668876
	<i>Thelephoraceae</i> (The1)	<i>Thelephoraceae</i>	<i>Thelephorales</i>	—	MT554431	546/557	98%	FJ554019
2	<i>Inocybe muricellata</i>	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MG844989	635/640	99%	AM882915
	<i>Xenopolyscytatum</i> sp. (Xen1)	<i>Hamatoacanthoscypha-ceae</i>	<i>Helotiales</i>	СП	—	437/438	99%	UDB013677

Таблица 3. Продолжение

Номер дерева	Идентифицированные ОТЕ	Семейство	Порядок	Экологическая группа	Номер GenBank	Результат анализа BLAST		
						Идентичность (п.н.)	Сходство (%)	Номер GenBank или UNITE
3	<i>Tuber scruposum</i> R. Hesse	<i>Tuberaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554446	387/390	99%	JF261389
	<i>Inocybe muricellata</i>	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MG844989	598/602	99%	AM882916
	<i>Tarzetta cupularis</i> (L.) Lambotte	<i>Pyronemataceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554429	547/550	99%	UDB027406
4	<i>Laccaria tortilis</i> (Bolton) Cooke	<i>Hydnangiaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554419	570/571	99%	MG076772
	<i>Cepococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytilinidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Inocybe muricellata</i>	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MG844989	618/619	99%	UDB035996
15	<i>Heyderia abietis</i> (Fr.) Link	<i>Hemiphaciaceae</i>	<i>Helotiales</i>	СП	—	272/281	97%	UDB031068
	<i>Cepococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytilinidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Tomentella</i> sp. (Tom1)	<i>Thelephoraceae</i>	<i>Thelephorales</i>	ЭМ	MT554436	571/574	99%	UDB013711
32	<i>Entoloma araneosum</i> (Quél.) M.M. Moser	<i>Entolomataceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554405	260/262	99%	KC710056
	<i>Inocybe griseovelata</i>	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554411	208/208	100%	JF908237
	<i>Sebacina</i> sp. (Seb3)	<i>Sebacinaceae</i>	<i>Sebacinales</i>	ЭМ	MT554428	483/483	100%	KM576595
PP1	<i>Pyronemataceae</i> (Pyr2)	<i>Pyronemataceae</i>	<i>Pezizales</i>	—	MT554424	577/581	99%	UDB028540
	<i>Inocybe posterula</i> (Britzelm.) Sacc.	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554414	502/506	99%	KM873368
	<i>Tomentella badia</i> (Link) Stalpers	<i>Thelephoraceae</i>	<i>Thelephorales</i>	ЭМ	MT554435	488/500	98%	JX630675
PP2	<i>Sebacina</i> sp. (Seb4)	<i>Sebacinaceae</i>	<i>Sebacinales</i>	ЭМ	MT554443	496/496	100%	KM576595
	<i>Inocybe muricellata</i>	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MG844989	611/611	100%	AM882916
	<i>Inocybe</i> sp. (Ino1)	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554415	617/617	100%	HF675592
1D	<i>Inocybe</i> sp. (Ino2)	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554416	546/551	99%	KT020788
	<i>Cepococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytilinidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Sepulcariella semiimmersa</i> (P. Karst.) Van Vooren, U. Lindem. et Healy	<i>Pyronemataceae</i>	<i>Pezizales</i>	СП	—	169/176	96%	KY364041
PP2	<i>Trichophaca woolhopeia</i> (Cooke et W. Phillips) Boud.	<i>Pyronemataceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554440	565/584	97%	GU811251
	<i>Hymenogaster arenarius</i> Tul. et C. Tul.	<i>Hymenogastraceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554407	256/258	99%	GU479272
	<i>Tulasnella</i> sp.	<i>Tulasnellaceae</i>	<i>Cantharellales</i>	ЭМ	MT554450	464/518	90%	AF518662
1D	<i>Phanerodonia chrysosporium</i>	<i>Phanerochaetaceae</i>	<i>Polyporales</i>	СП	—	468/471	99%	KX668574

Таблица 3. Продолжение

Номер дерева	Идентифицированные ОТЕ	Семейство	Порядок	Экологическая группа	Номер GenBank	Результат анализа BLAST		
						Идентичность (п.н.)	Сходство (%)	Номер GenBank или UNITE
2D	<i>Sarocladium kiltense</i> (Grütz) Sumnerb.	<i>Incertae sedis</i>	<i>Hypocreales</i>	СП	—	384/394	97%	MH790391
3D	<i>Phanerochaete</i> sp.	<i>Phanerochaetaceae</i>	<i>Polyporales</i>	СП	—	324/342	95%	KX668574
Весенний период								
11	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> (Link) Minnis et D.L. Lindner	<i>Mycotrichaceae</i>	<i>Incertae sedis</i>	СП	—	399/401	99%	MF782810
118	<i>Tuber</i> sp. (Tub1)	<i>Tuberaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554447	523/523	100%	UDB033031
	<i>Tuber borchii</i>	<i>Tuberaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MG844986	304/308	99%	MF782810
	<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Pyronemataceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554440	507/520	98%	DQ200835
	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
129	<i>Entoloma griseorugulosum</i> Noordel. et Fern. Sas.	<i>Entolomataceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554403	238/245	97%	LN850589
25	<i>Tomentella</i> sp. (Tom2)	<i>Thelephoraceae</i>	<i>Thelephorales</i>	ЭМ	MT554437	479/480	99%	UDB027150
27	<i>Tuber</i> sp. (Tub2)	<i>Tuberaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554448	522/524	99%	UDB033031
	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Pseudodictyosporium wauense</i> Matsush.	<i>Dictyosporiaceae</i>	<i>Pleosporales</i>	СП	—	353/356	99%	MF948622
35	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Clavulina</i> sp. (Cla1)	<i>Cantharellaceae</i>	<i>Cantharellales</i>	ЭМ	MT554400	533/548	97%	UDB017086
77	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
78	<i>Xenopolyscytium</i> sp. (Xen2)	<i>Hama ocanthoscypha-ceae</i>	<i>Helotiales</i>	СП	—	525/541	97%	DQ093754
90	<i>Balsamia platyspora</i>	<i>Helvellaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554399	338/339	99%	KP149498
128	<i>Russula pectinatoides</i>	<i>Russulaceae</i>	<i>Russulales</i>	ЭМ	MT554425	607/626	97%	MG679820
Sph	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
1	<i>Tuber rufum</i>	<i>Tuberaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MG844993	299/308	97%	AY940646
	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Tuber scruposum</i>	<i>Tuberaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554447	197/201	98%	JF261405
	<i>Inocybe cincinnata</i> (Fr.) Quél.	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554408	674/679	99%	FN550923
	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		

Таблица 3. Окончание

Номер дерева	Идентифицированные ОТЕ	Семейство	Порядок	Экологическая группа	Номер GenBank	Результат анализа BLAST		
						Идентичность (п.н.)	Сходство (%)	Номер GenBank или UNITE
2	<i>Thelephoraceae</i> (The2)	<i>Thelephoraceae</i>	<i>Thelephorales</i>	—	MT554432	221/230	96%	KM576619
	<i>Tuber scruposum</i>	<i>Tuberaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554446	327/336	97%	JF261389
	<i>Tuber</i> sp. (Tub3)	<i>Tuberaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554449	525/526	99%	KU186914
	<i>Inocybe</i> sp. (Ino3)	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554417	487/492	99%	UDB026019
	<i>Tuber maculatum</i> Vittad.	<i>Tuberaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554444	519/519	100%	UDB027452
3	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	“ “	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
15	<i>Inocybe</i> sp. (Ino4)	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554418	239/245	98%	HG937627
4	<i>Thelephoraceae</i> (The3)	<i>Thelephoraceae</i>	<i>Thelephorales</i>	—	MT554433	656/656	100%	UDB007523
	<i>Entoloma gerriae</i> Noordel.	<i>Entolomataceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554402	541/543	99%	KC710063
	<i>Tomentella</i> sp. (Tom3)	<i>Thelephoraceae</i>	<i>Thelephorales</i>	ЭМ	MT554438	505/515	98%	HE687150
	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Russula pectinatoides</i>	<i>Russulaceae</i>	<i>Russulales</i>	ЭМ	MT554425	669/673	99%	UDB019332
32	<i>Clavulina</i> sp. (Cla2)	<i>Cantharellaceae</i>	<i>Cantharellales</i>	ЭМ	MT554401	614/621	99%	KU924302
	<i>Inocybe muricellata</i>	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MG844989	622/625	99%	AM882915
PP1	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Thelephora terrestris</i> Ehrh.	<i>Thelephoraceae</i>	<i>Thelephorales</i>	ЭМ	MT554430	611/612	99%	JQ711980
	<i>Peziza</i> sp. (Pez4)	<i>Pezizaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554442	564/587	96%	JF908553
	<i>Inocybe decemgibbosa</i>	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554410	659/670	98%	KY033847
	<i>I. nitidiuscula</i> (Britzelm.) Lapl.	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554413	662/672	99%	UDB017920
PP2	<i>Tuber rapaeodorum</i> Tul. et C. Tul.	<i>Tuberaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554445	391/403	97%	EU784430
	<i>Trichophaca woolhopeia</i>	<i>Pyronemataceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MT554440	307/311	99%	GU811253
	<i>Inocybe decemgibbosa</i>	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554410	642/649	99%	KY033847
	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Helvella elastica</i>	<i>Helvellaceae</i>	<i>Pezizales</i>	ЭМ	MG844979	646/651	99%	UDB002869
1D	<i>Inocybe griseovelata</i>	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554411	335/342	98%	JF908237
	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
	<i>Inocybe pusio</i> P. Karst.	<i>Inocybaceae</i>	<i>Agaricales</i>	ЭМ	MT554409	705/710	99%	UDB008811
	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Gloniaceae</i>	<i>Mytiliniidiales</i>	ЭМ	—	На основе морфологических признаков		
				ЭМ				

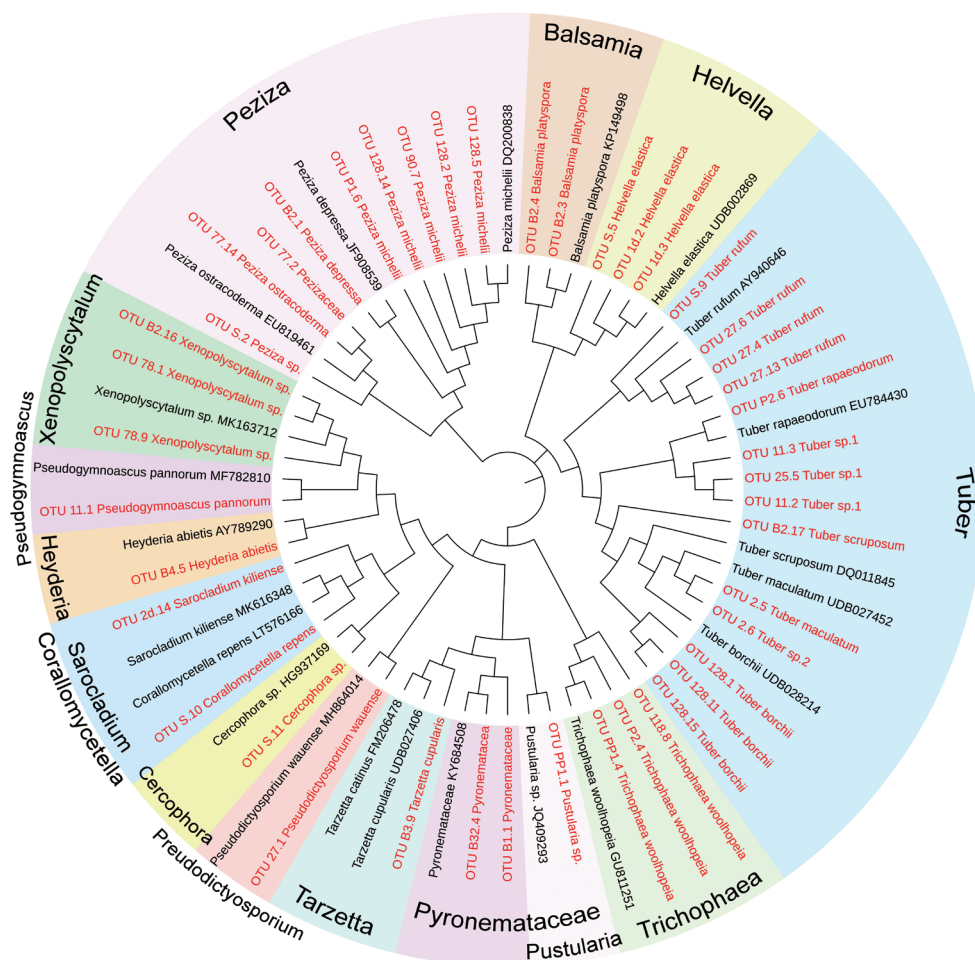


Рис. 5. Филогенетическое дерево, полученное с помощью ML-алгоритма на основании анализа региона ITS1–5.8S–ITS2 представителей *Ascomycota*. Красным цветом отмечены нуклеотидные последовательности ОТЕ, полученные в ходе проведенного исследования, черным цветом — референсные нуклеотидные последовательности из баз данных (GenBank, UNITE).

(12 таксонов): *Balsamia platyspora*, *Entoloma araneosum*, *E. tiliae*, *Inocybe griseovelata*, *I. langei*, *I. muricellata*, *Laccaria tortilis*, *Peziza ostracoderma*, *Sebacina* sp., *Tarzetia cupularis*, *Tomentella* sp., *Trichophaea woolhopeia*; для *Tilia ×europaea* (8 таксонов): *Entoloma gerriae*, *E. griseorugulosum*, *Hebeloma celatum*, *Inocybe cincinnata*, *I. decemgibbosa*, *I. griseovelata*, *I. muricellata*, *Tuber scruposum*.

Стоит отметить, что в рамках нашего исследования был подтвержден микоризный статус *Entoloma tiliae*. Данный вид был описан О.В. Морозовой (Crous et al., 2018) на территории Ботанического сада БИН РАН под *T. ×europaea*. Нами *E. tiliae* была выявлена на территории Летнего сада у *Tilia platyphyllos* № 118, а также на территории Ботанического сада у *T. cordata* (данные, не вошедшие в статью) с помощью молекулярной идентификации.

Для *T. cordata* было выявлено больше всего грибных таксонов (осенью 24 таксона и 20 весной), для *T. platyphyllos* и *T. ×europaea* данное разнообразие было меньше (рис. 10). На диаграмме Венна (рис. 10) можно увидеть, что количество таксонов ЭМГ меняется в зависимости от сезона у разных видов липы. На данном этапе исследования можно предположить, что для каждого вида липы характерен довольно специфический набор симбионтов. И лишь незначительная часть таксонов является общей для двух или трех видов.

Для всех исследуемых видов рода *Tilia* в целом осенью наблюдалось наибольшее таксономическое разнообразие — 19 родов ЭМГ (рис. 11). Для *T. cordata* по видовому разнообразию преобладали роды грибов: *Tuber*, *Peziza*, *Inocybe* (рис. 11), а для *T. platyphyllos* и *T. ×europaea* — род *Inocybe* (рис. 11).

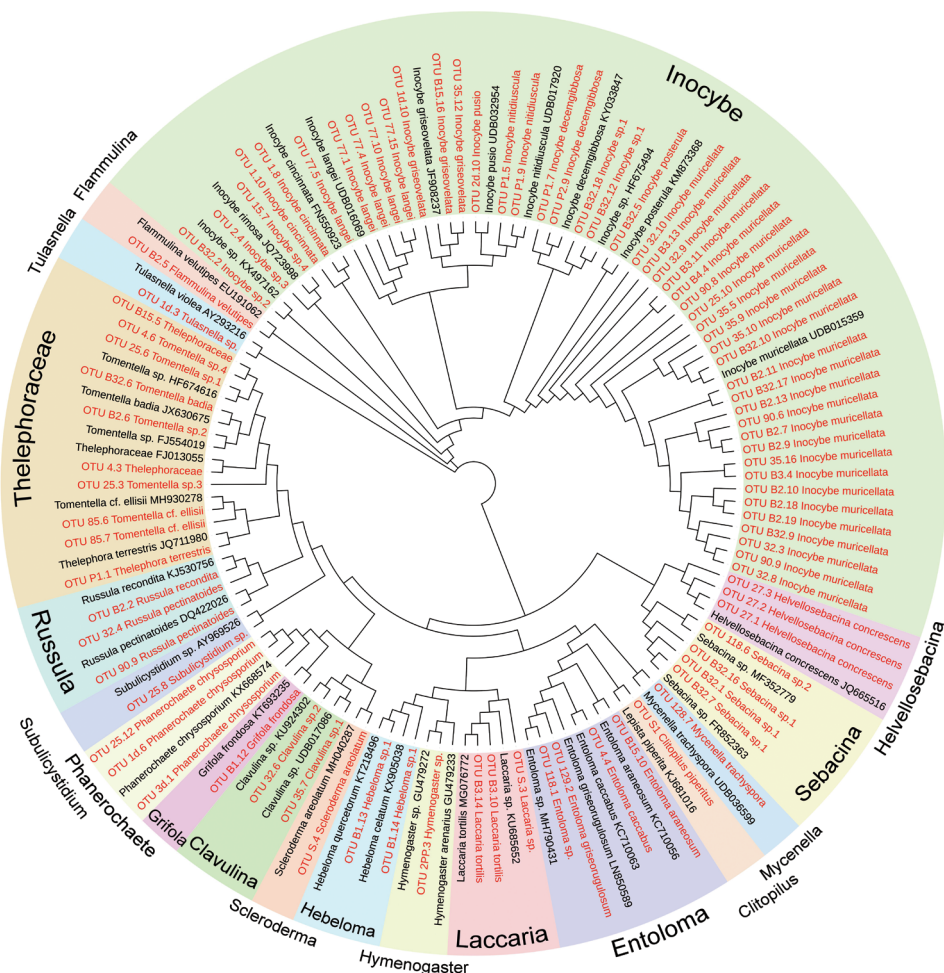


Рис. 6. Филогенетическое дерево, полученное с помощью ML-алгоритма на основании анализа региона ITS1–5.8S–ITS2 представителей *Basidiomycota*. Красным цветом отмечены нуклеотидные последовательности ОТЕ, полученные в ходе проведенного исследования, черным цветом — референсные нуклеотидные последовательности из баз данных (GenBank, UNITE).

Весной наблюдалось снижение видовой представленности ЭМ родов с 19 до 12 (рис. 11). Для *T. cordata* отмечались такие роды как *Inocybe* и *Tuber* (рис. 11), для *T. platyphyllos* не наблюдалось доминирование какого-либо из родов по числу видов (рис. 11), а у *T. ×europaea* весной наблюдалось преобладание рода *Entoloma* (рис. 11).

Среди модельных территорий наибольшее число таксонов ЭМГ осенью было отмечено в Летнем саду и Ботаническом саду БИН РАН, для Дудергофских высот был выявлен только 1 таксон (рис. 12). В весенний период наибольшее количество таксонов было обнаружено на территории Ботанического сада БИН РАН. В Летнем саду количество таксонов ЭМГ сократилось по сравнению с осенью. Хотелось бы отметить, что весна 2018 г. была довольно засушливая, и, возможно, с этим фактом связано небольшое количество вы-

явленных таксонов ЭМГ весной на территории Летнего сада. Разнообразие таксонов ЭМГ в Ботаническом саду БИН РАН может в некоторой степени определяться достаточно высоким содержанием в почве propagул симбионтов от деревьев из других систематических групп (т.е. обмен симбионтами с широким кругом хозяев), а также более подходящими микроклиматическими условиями территории.

На территории Летнего сада осенью по числу видов преобладали роды *Inocybe*, *Sebacina*, *Tuber* и *Peziza* (рис. 13). Для Ботанического сада БИН РАН отмечалось присутствие 14 родов с доминированием *Inocybe*. Для Дудергофских высот был выявлен только один род *Tulasnella* с одним представителем *Tulasnella* sp.

Весной видовая насыщенность родов выявленных ЭМГ для Летнего сада была ниже, чем осе-

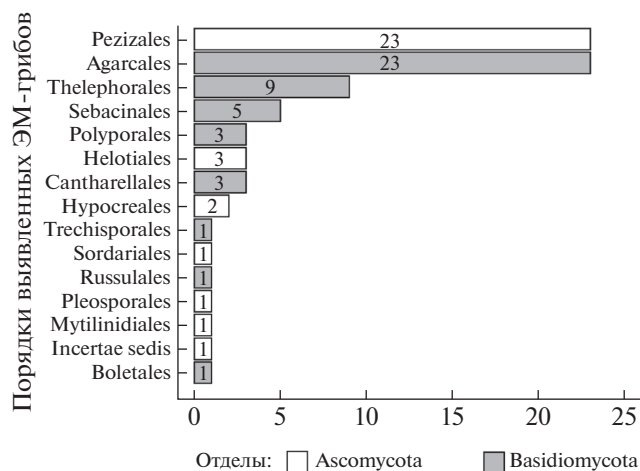


Рис. 7. Таксономический состав выявленных ЭМГ на уровне порядков.

нию, и преобладал род *Tuber*, в Ботаническом саду БИН РАН доминировали роды *Inocybe* и *Tuber*, на Дудергофских высотах — *Inocybe* (рис. 13).

Также мы провели сравнение ЭМГ, выявленных в ходе мониторинга плодовых тел (Bondartseva et al., 2014; Morozova et al., 2014; Popov, 2014; Zhukova et al., 2017), с полученными данными молекулярной идентификации ДНК грибов из корневых окончаний лип. На основании мониторинга плодовых тел было выявлено 122 таксона эктомикоризных симбионтов для всех модельных территорий, тогда как с помощью анализа ДНК из корневых окончаний лип выделено 58 таксонов эктомикоризных грибов. При этом 14 таксонов оказались общими для “надземного” и “подземного” разнообразия (рис. 14): *Entoloma araneosum*, *E. gerriae*, *E. griseorugulosum*, *Helvella elastica*, *Inocybe cincinnata*, *I. muricellata*, *I. nitidiuscula*, *I. posterula*, *Laccaria tortilis*, *Peziza depressa*, *P. michelii*, *Russula pectinatoides*, *Tarzetta cupularis* и *Tomentella ellisii*. Метод молекулярной идентификации ЭМ симбионтов считается более достоверным для определения круга симбионтов растений, хотя нужно понимать, что и он не дает исчерпывающих результатов. При сочетании этих двух подходов можно расширить представление о круге ЭМ симбионтов липы, произрастающих в условиях городской среды.

Влияние почвенных условий на состав и структуру сообществ ЭМГ. Одной из поставленных задач исследования было изучение влияния некоторых почвенных факторов на состав эктомикоризных грибных сообществ. Для этого проводился анализ почвы на содержание подвижного фосфора (P_2O_5 , мг/кг), нитратного азота (NO_3^- , мг/кг) и устанавливалось значение pH.

Выбор именно этих показателей почвы не случаен. Фосфор и азот являются важными элементами

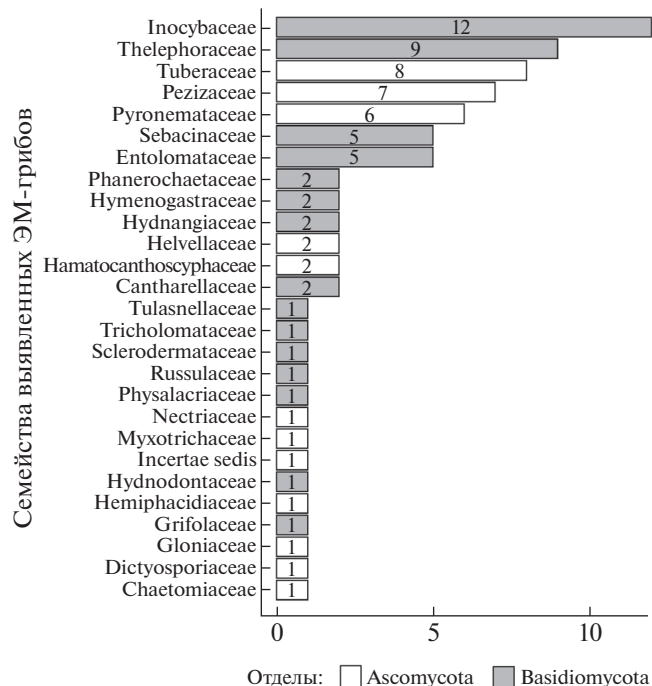


Рис. 8. Таксономический состав выявленных ЭМГ на уровне семейств.

ми в жизни растений. Нехватка данных элементов или их наличие в труднодоступной форме замедляют рост растения (Smith, Read, 2008). Неоднократно было показано, что грибные симбионты способны улучшать минеральное питание растений (Entry et al., 2002; Courty et al., 2016), что особенно важно при небольших концентрациях N и P в почве. Микоризные грибы также участвуют в мобилизации данных элементов из труднодоступных соединений. Стоит отметить, что при высокой концентрации в почве доступного N и P будет происходить снижение колонизации корней микоризой и ее роли в минеральном питании растения (Smith, Read, 2008). Это связано с тем, что растение самостоятельно способно получать необходимое количество легкодоступного азота и фосфора для роста и развития, без затрат углерода на содержание симбионта.

Значение pH почвы влияет на состав и структуру сообществ ЭМГ. Низкое значение pH бореальных почв наиболее благоприятно для развития большинства ЭМГ в бореальной зоне. Предпочтения к кислотности могут варьировать довольно широко — от 3.5 до 6 pH, и эти предпочтения меняются в зависимости от таксона гриба. Зашелачивание почвы, напротив, приводит к снижению разнообразия ЭМГ в бореальной зоне (Shubin, 1973; Smith, Read, 2008).

В нашем исследовании концентрация нитратного азота (NO_3^-) и подвижного фосфора (P_2O_5)

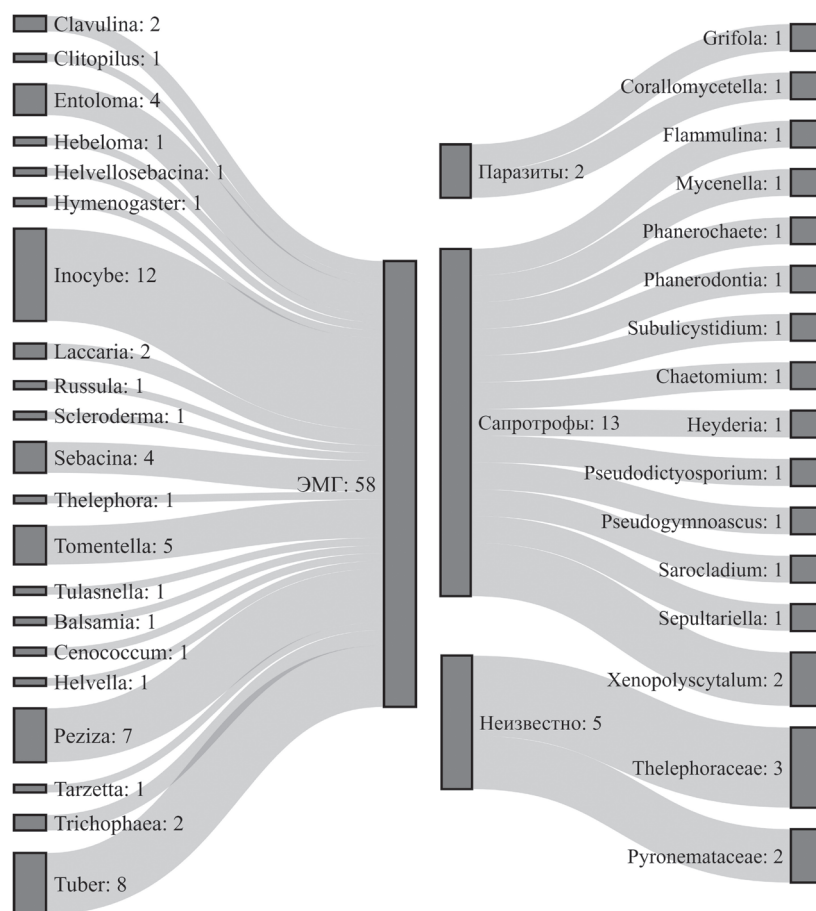


Рис. 9. Распределение выявленных таксонов грибов по экологическим группам.

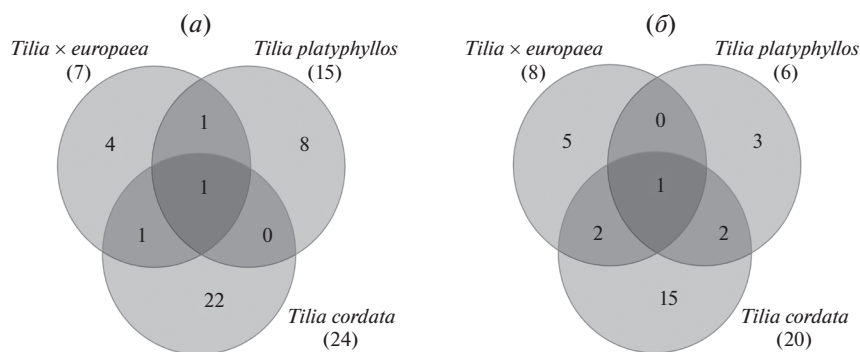


Рис. 10. Количество общих и видоспецифичных ОТЕ у разных представителей *Tilia*: а – осенний период; б – весенний период.

менялась в зависимости от места сбора. Образцы почв из Летнего сада характеризовались более низкими значениями в показателях NO_3^- и P_2O_5 по сравнению с другими модельными территориями (табл. 4).

Значения pH почвы на исследуемых территориях варьировали от 6.12 до 7.96 (табл. 5). На территории Летнего сада почвы классифицировались от слабокислых до слабощелочных, в Ботаническом саду БИН РАН – как слабокислые нейтраль-

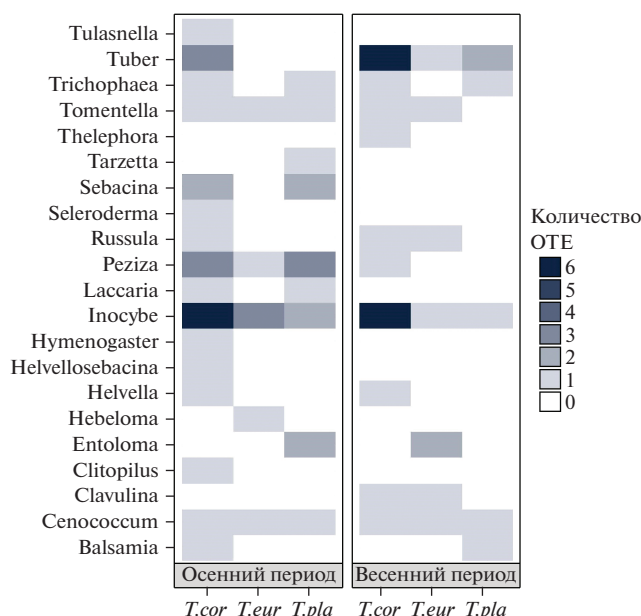


Рис. 11. Родовые спектры ЭМГ, выявленных у разных видов липы.

ные, для Дудергофских высот была характерна слабощелочная почвенная среда.

Для исследования значимости влияния почвенных факторов на разнообразие ЭМГ использовался анализ главных компонент (АГК), для проведения которого были выбраны 5 переменных: количество таксонов ЭМГ весной и осенью, показатели подвижного фосфора, нитратного азота и рН. Результаты АГК показали (рис. 15), что первая компонента описывает 48.61% изменчивости и вместе со второй компонентой они описывают 67.79% от общей изменчивости (рис. 15). Это небольшой процент объясненной дисперсии, и скорее всего не учтены какие-либо более весомые факторы. Но, несмотря на это, можно сказать, что

по первой компоненте имеется положительная корреляция подвижного фосфора и нитратного азота с количеством таксонов ЭМГ весной ($r = 0.87$) и значимая корреляция с количеством таксонов осенью ($r = 0.37$). Из этого следует, что с повышением содержания в почве подвижного фосфора и нитратного азота можно будет ожидать положительную динамику в отношении увеличения разнообразия ЭМГ на наших модельных территориях. Однако, как отмечалось ранее, повышение содержания N и P в почве будет положительно влиять на разнообразие ЭМГ до тех пор, пока концентрация этих элементов не достигнет критической точки, после которой растение будет способно самостоятельно получать данные элементы без участия грибных симбионтов, что будет приводить к снижению разнообразия ЭМГ.

Из этого можно заключить, что количество азота и фосфора, которое выявлено на изученных модельных территориях, в целом благоприятствует развитию эктомикоризы. Внесение небольшого количества удобрений, содержащих N и P (при низких концентрациях этих элементов), будет способствовать поддержанию ЭМГ и улучшать состояние липы в городской среде.

По второй компоненте имеется значимая отрицательная корреляция рН почвы с количеством таксонов ЭМГ осенью ($r = -0.62$), и меньше весной ($r = -0.18$), т.е. с повышением рН будет происходить защелачивание почвы, что будет приводить к уменьшению разнообразия симбионтов и доминированию таксонов, толерантных к щелочной среде. Что и наблюдалось для территории Дудергофских высот и одного дерева из Летнего сада под номером 78, где показатели почвы были слабощелочные (от 7.72 до 7.96 рН) (табл. 5), а количество таксонов ЭМГ незначительное (от 0 до 3 таксонов на дерево). Также стоит отметить, что у этих деревьев наблюдалась высокая доля участия в колонизации корней АМ, из чего можно сделать заключение о значимой роли АМГ в микоризном

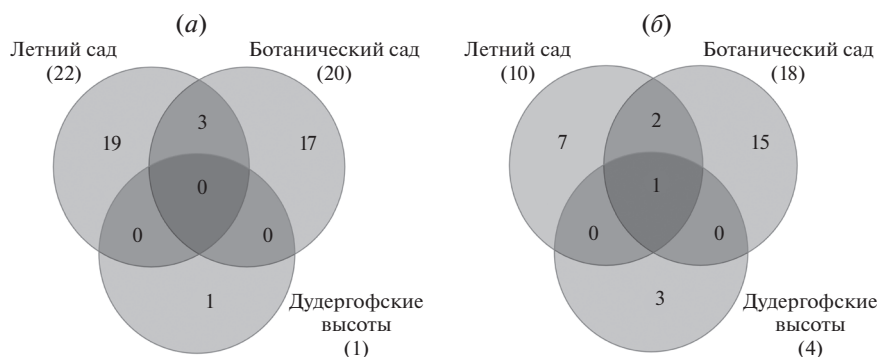


Рис. 12. Количество ОТЕ ЭМГ у липы в зависимости от модельной территории: а – осенний период; б – весенний период.

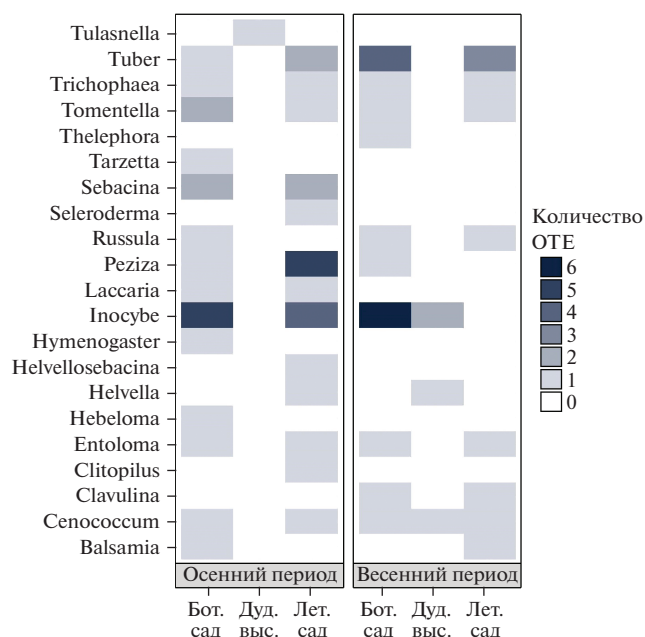


Рис. 13. Родовые спектры ЭМГ, выявленные у липы в различных местонахождениях.

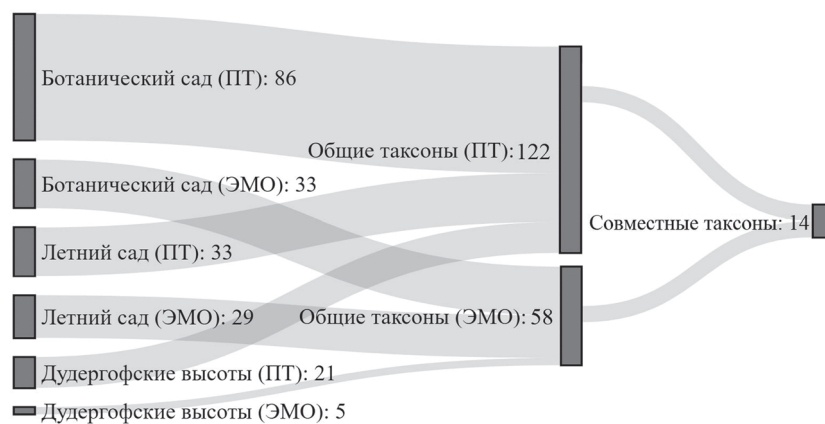


Рис. 14. Сравнение числа видов ЭМГ, выявленных в ходе мониторинга плодовых тел, с полученными данными молекулярной идентификации грибов из микоризных окончаний липы.

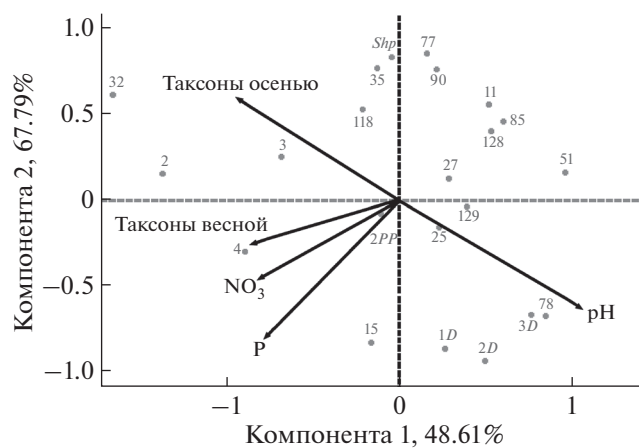


Рис. 15. Результат анализа главных компонент (АГК).

Таблица 4. Результаты анализа почвы на модельных территориях

Место отбора	№ пробы	(NO ₃ ⁻), мг/кг	(P ₂ O ₅), мг/кг
Летний сад	1	8.1	44
“ “	2	6	112
“ “	3	10.6	98
“ “	4	12.8	103
“ “	5	9.4	92
Ботанический сад	6	22	190
“ “	7	23	220
“ “	8	6.9	170
“ “	9	14	590
Дудергофские высоты	10	15	140
“ “	11	17	100

Таблица 5. Результаты измерения pH почвы для каждого исследуемого дерева

Номер дерева	pH
35	6.42
129	7.13
90	6.79
85	7.13
Shp	7.04
128	7.13
25	7.43
51	7.37
27	7.13
118	6.90
11	7.13
78	7.96
77	7.13
4	6.26
1	7.02
2	6.42
1PP	6.73
32	6.12
2PP	6.73
3	6.34
15	7.46
1D	7.72
2D	7.72
3D	7.72

симбиозе с липой в почвенной среде, склонной к защелачиванию.

Авторы выражают свою благодарность сотруднику Летнего сада инженеру СПХ, О.В. Шалакитской за помощь в проведении исследования на территории Летнего сада. Работа выполнена в рамках государственного задания БИН РАН “Биоразнообразие и пространственная структура сообществ грибов и миксомицетов в природных и антропогенных экосистемах” (регистрационный номер НИОКТР: АААА-А18-118031290108-6) на оборудовании Центра коллективного пользования научным оборудованием “Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов” Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (ЦКП БИН РАН) и при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта (№ 19-04-00024 А).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Angiosperm Phylogeny Group. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. 2016. Bot. J. Linn. Soc. V. 181 (1). P. 1–20.
- Bainard L., Klironomos J., Gordon M.A. The mycorrhizal status and colonization of 26 tree species growing in urban and rural environments. Mycorrhiza. 2011. V. 21 (2). P. 91–96.
<https://doi.org/10.1007/s00572-010-0314-6>
- Beck A., Kottke I., Oberwinkler F. Two members of the *Glomeromycota* form distinct ectendomycorrhizas with *Alzatea verticillata*, a prominent tree in the mountain rain forest of southern Ecuador. Mycol. Progress. 2005. V. 4 (1). P. 11–22.
- Beck A., Haug I., Oberwinkler F., Kottke I. Structural characterization and molecular identification of arbuscular mycorrhiza morphotypes of *Alzatea verticillata* (Alzateaceae), a prominent tree in the tropical mountain rain forest of South Ecuador. Mycorrhiza. 2007. V. 17. P. 607–625.
- Bondartseva M.A., Kotkova V.M., Zmitrovich I.V. et al. Aphyllophoroid and heterobasidioid fungi of the Peter the Great Botanical Garden of the Komarov Botanical Institute of RAS (St. Petersburg). Botany: history, theory, practice (to the 300th anniversary of the Komarov Botanical Institute): Trudy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii, St Petersburg. 2014. P. 23–30 (in Russ.).
- Busetti L. Sulle micorrize dei tigli (About mycorrhizas of *Tilia*). Allionia. 1962. V. 8. P. 45–54.
- Brundrett M.C., Tedersoo L. Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. New Phytol. 2018. P. 220.
- Ceruti A., Busetti L. Sulla simbiosi micorrizica tra tigli e *Boletus subtomentosus*, *Russula grisea*, *Balsamia platysporae*, *Hysterangium clathroides* (About mycorrhizal symbiosis of *Tilia* trees and *Boletus subtomentosus*, *Russula grisea*, *Balsamia platyspora* and *Hysterangium clathroides*). Allionia. 1962. V. 8. 55–66.
- Courty P.E., Doidy J., Garcia K. et al. The transportome of mycorrhizal systems. 2016.
<https://doi.org/10.1002/9781118951446.ch14>

- Chilvers G., Lapeyrie F., Horan D. Ectomycorrhizal vs endomycorrhizal fungi within the same root system. *New Phytol.* 1987. V. 107 (2). P. 441–448. Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/2433068?seq=1>.
- Crous P.W., Luangsa-Ard J.J., Wingfield M.J. et al. Fungal Planet description sheets: 785–867. *Persoonia*. 2018. V. 41. P. 238–417. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2018.41.12>
- Dodd J.C., Boddington C.L., Rodriguez A. et al. Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from different genera: form, function and detection. *Plant and Soil*. 2000. V. 226. P. 131–151.
- Dudka V.A., Malysheva E.F., Malysheva V.F. et al. Mycorrhizal status of *Tilia cordata* in the summer garden (Saint Petersburg): Diversity of fungal symbionts and type of mycorrhizal colonization. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2018a. V. 52 (4). P. 243–251 (in Russ.).
- Dudka V.A. Mycorrhizal status of *Tilia cordata* in the Summer Garden and Peter the Great Botanical Garden (Saint Petersburg): diversity of fungal partners and type of mycorrhizal colonization. In: International Botanical Conference of Young Scientists in Saint-Petersburg, April 22nd–28th. 2018b, pp. 208–209.
- Entry J.A., Rygielwicz P.T., Watrud L.S. et al. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. *Adv. Environ. Res.* 2002. V. 7. P. 123–138.
- Finì A., Piero F., Amoroso G. et al. Effect of controlled inoculation with specific mycorrhizal fungi from the urban environment on growth and physiology of containerized shade tree species growing under different water regimes. *Mycorrhiza*. 2011. V. 21. <https://doi.org/10.1007/s00572-011-0370-6>
- Garbaye J., Churin J.L. Effect of ectomycorrhizal inoculation at planting on growth and foliage quality of *Tilia tomentosa*. *J. Arboriculture*. 1996. V. 22. P. 29–34.
- Gardes M., Bruns T.D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molec. Ecol.* 1993. V. 2. P. 113–118.
- Giomaro G., Sisti D., Zambonelli A. et al. Comparative study and molecular characterization of ectomycorrhizas in *Tilia americana* and *Quercus pubescens* with *Tuber brumale*. *FEMS Microbiol.* 2002. V. 216. P. 9–14.
- Gonçalves S.C., Martins-Loução M.A., Freitas H. Evidence of adaptive tolerance to nickel in isolates of *Cenococcum geophilum* from serpentine soils. *Mycorrhiza*. 2009. V. 19 (4). P. 221–230.
- Guo D., Xia M., Wei X. et al. Anatomical traits associated with absorption and mycorrhizal colonization are linked to root branch order in twenty-three Chinese temperate tree species. *New Phytol.* 2008. V. 180. P. 673–683.
- Hall I.R. Species and mycorrhizal infections of New Zealand Endogonaceae. *Trans British Mycol. Soc.* 1977. V. 68. P. 341–356.
- Ishida T.A., Nara K., Hogetsu T. Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: insight from eight host species in mixed conifer–broadleaf forests. *New Phytol.* 2007. V. 174. P. 430–440.
- Jany J.L., Martin F., Garbaye J. Respiration activity of ectomycorrhizas from *Cenococcum geophilum* and *Lactarius* sp. in relation to soil water potential in five beech forests. *Plant and Soil*. 2003. V. 255 (2). P. 487–494.
- Koske R.E., Gemma J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycol. Res.* 1989. V. 92 (4). P. 486–488.
- Kõljalg U., Nilsson R.H., Abarenkov K. et al. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Molec. Ecol.* 2013. V. 22. P. 5271–5277.
- Kumar S., Stecher G., Li M. et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018. V. 35 P. 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kuhns L.J. Potential benefits of mycorrhizae in the urban environment. *Metro Tree Improvement Alliance*. 1980. V. 3. P. 77–82.
- Lang C., Seven J., Polle A. Host preferences and differential contributions of deciduous tree species shape mycorrhizal species richness in a mixed Central European forest. *Mycorrhiza*. 2011. V. 21. P. 297–308.
- Lapin P.I. Botanical gardens of the USSR. Moscow. Kolos. 1984. P. 216 (in Russ.).
- McLean E.O. Soil pH and lime requirement. *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties—Agronomy Monograph. No. 9.* WI, 1982. P. 199–209.
- Melnikov V.Yu. The historical range of plants for the Summer Garden. In: Abstracts of the XV conference of gardens of Saint Petersburg. St. Petersburg, 2014, pp. 106–109 (in Russ.).
- Morozova O.V., Kovalenko A.E., Rebriev Yu.A. et al. Agaricoid and gasteroid fungi in the park of the Botanical Garden of the Komarov Botanical Institute. *Botany: history, theory, practice (to the 300th anniversary of the Komarov Botanical Institute): Trudy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii*, St. Petersburg, 2014, pp. 142–149 (in Russ.).
- Nielsen J., Rasmussen H. Mycorrhizal status and morphotype diversity in *Tilia cordata* – a pilot study of nurseries and urban habitats. *Acta Horticulturae*. 1999. V. 496. P. 451–459.
- Nilsson R.H., Tedersoo L., Abarenkov K. et al. Five simple guidelines for establishing basic authenticity and reliability of newly generated fungal ITS sequences. *MycKeys*. 2012. V. 4. P. 37–63.
- Obase K., Douhan G.W., Matsuda Y. et al. Progress and challenges in understanding the biology, diversity, and biogeography of *Cenococcum geophilum*. In: L. Tedersoo (ed.) *Biogeography of mycorrhizal symbiosis. Ecological Studies (Analysis and Synthesis)*. V. 230. Springer, 2017.
- Oksanen J., Blanchet F.G., Friendly M. et al. *Vegan: community ecology package.* R package version 2.5–1. 2018. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>. Accessed 01.09.2018.
- Orchard S., Standish R., Dickie I. et al. Fine root endophytes under scrutiny: a review of the literature on arbuscule-producing fungi recently suggested to belong to the *Mucoromycotina*. *Mycorrhiza*. 2017. V. 27 (7). P. 619–638. <https://doi.org/10.1007/s00572-017-0782-z>
- Pigott C.D. Survival of mycorrhiza formed by *Cenococcum geophilum* Fr. in dry soils. *New Phytol.* 1982. V. 92. P. 513–517.
- Pigott C.D. *Tilia cordata* Miller. *J. Ecol.* 1991. V. 79. P. 1147–1207.

- Pigott C.D. Lime-trees and Basswoods: a biological monograph of the genus *Tilia*. Cambridge and N.Y. 2012. Cambridge University Press.
https://doi.org/10.1017/CBO9781139033275.
- Popov E. S. Discomycetes of Peter the Great Botanical Garden. In: Botany: history, theory, practice (to the 300th anniversary of the Komarov Botanical Institute): Trudy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii, St. Petersburg, 2014, P. 166–169 (in Russ.).
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2012. http://www.R-project.org/.
- RStudio Team. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA. 2017. URL https://rstudio.com/.
- Saleh-Rastin N. Salt tolerance of the mycorrhizal fungus *Cenococcum graniforme* (Sow.) Ferd. Eur. J. Forest Pathol. 1976. V. 6 (3). P. 184–187.
- Smith S.E., Read D.J. Mycorrhizal symbiosis. 3rd edn. London: Academic Press Ltd, 2008. P. 800.
- Smith S.E., Smith F.A. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. Annu. Rev. Plant. Biol. 2011. V. 62. P. 227–250.
- Smith M.E., Gryganskiy A., Bonito G. et al. Phylogenetic analysis of the genus *Modicella* reveals an independent evolutionary origin of sporocarp-forming fungi in the Mortierellales. Fungal Genetics Biol. 2013. V. 61. P. 61–68.
- Strullu-Derrien C., Kenrick P., Selosse M.A. Origins of the mycorrhizal symbioses. In: F. Martin (ed.). Molecular mycorrhizal symbiosis. Wiley, 2016. P. 1–20.
- Shubin V.I. Mycotrophy of tree species. Value for forest cultivation in the taiga zone. Nauka, Leningrad, 1973 (in Russ.).
- Summer garden. Revival. North Slavic advertising Bureau, St. Petersburg, 2012.
- Tedersoo L., May T.W., Smith M.E. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. Mycorrhiza. 2010. V. 20. P. 217–263.
- Timonen S., Kauppinen P. Mycorrhizal colonisation patterns of *Tilia* trees in street, nursery and forest habitats in southern Finland. Urban Forestry and Urban Greening. 2008. V. 7. P. 265–276.
- Trouvelot A., Kough J., Gianinazzi-Pearson V. Evaluation of VA infection levels in root systems. Research for estimation methods having a functional significance. In: V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi (eds). Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. INRA Press, Paris, 1986. P. 217.
- Tybarska J., Frymark-Szymkowiak A., Kulczyk-Skrzeszewska M. et al. Mycorrhizal status of forest trees grown in urban and rural environments in Poland. Ecological Questions. 2013. P. 49–57.
- Vasilyev I.V. Family *Tiliaceae* Juss. trees and shrubs of the USSR. V. 4. Izd-vo AN SSSR, Moscow, Leningrad, 1958 (in Russ.).
- Volkova E.A., Isachenko G.A., Khramtsov V.N. Duderhof Heights is a complex natural monument. St. Petersburg, 2006 (in Russ.).
- Walker C., Gollotte A., Redecker D. A new genus, *Planticonsortium* (Mucoromycotina), and new combination (*P. tenue*), for the fine root endophyte, *Glomus tenue* (basionym *Rhizophagus tenue*). Mycorrhiza. 2018a. https://doi.org/10.1007/s00572-017-0815-7
- Walker C., Harper C.J., Brundrett M.C. et al. Looking for arbuscular mycorrhizal fungi in the fossil record: An Illustrated Guide. Michael Krings et al. (eds.). Transformative paleobotany. Academic Press, 2018b. P. 481–517.
- Wang B., Qiu Y.L. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. Mycorrhiza. 2006. V. 16. P. 299–363.
https://doi.org/10.1007/s00572-005-0033-6
- Weissenhorn I. Mycorrhiza and salt tolerance of trees. EU project Mycorem QLK3-1999-00097. Scientific Report. 2002. P. 36.
- Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag, N.Y., 2009.
- White T.J., Bruns T.D., Lee S. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols. A guide to methods and applications. N.Y., 1990, P. 315–322.
- Zhukova E.A., Morozova O.V., Volobuev S.V. et al. Basidiomycetous macromycetes and their influence on the state of green spaces in the gardens of the Russian Museum (St. Petersburg). Mikologiya i fitopatologiya. 2017. V. 51 (6). P. 328–339 (in Russ.).
- Бондарцева М.А., Коткова В.М., Змитрович И.В. и др. (Bondartseva et al.). Афиллофороидные и гетеробазидиальные грибы Ботанического сада Петра Великого Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН Санкт-Петербург // Ботаника: история, теория, практика (к 300-летию основания Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук): труды международной научной конференции. СПб., 2014. С. 23–30.
- Васильев И.В. (Vasiliev) Сем. Липовые — Tiliaceae Juss. // Деревья и кустарники СССР. Т. 4. М., Л.: Изд-во АН СССР, 1958. С. 659–727.
- Волкова Е.А., Исаченко Г.А., Храмов В.Н. (Volkova et al.). Дудергофские Высоты — Комплексный памятник природы. СПб., 2006. 144 с.
- Дудка В.А., Малышева Е.Ф., Малышева В.Ф. и др. (Dudka et al.). Микоризный статус липы (*Tilia cordata*) в летнем саду (Санкт-Петербург): состав грибных симбионтов и тип микоризной колонизации // Микология и фитопатология. 2018а. Т. 52. № 4. С. 243–251.
- Дудка В.А. (Dudka) Микоризный статус липы (*Tilia cordata*) в Летнем саду и Ботаническом саду Петра Великого (Санкт-Петербург): разнообразие грибных партнеров и тип микоризной колонизации // Материалы IV (XII) Международной ботанической конференции молодых ученых в Санкт-Петербурге 22–28 апреля 2018 г. СПб., 2018b. С. 208–209.
- Жукова Е.А., Морозова О.В., Волобуев С.В. и др. (Zhukova et al.) Базидиальные макромицеты и их влияние на состояние зеленых насаждений садов Русского музея (Санкт-Петербург) // Микология и фитопатология. 2017. Т. 51. № 6. С. 328–339.
- Лавин П.И. (Lapin). Ботанические сады СССР. М.: Колос, 1984. 216 с.

- Мельников В.Ю. (Melnikov). Исторический ассортимент растений Летнего сада // Тезисы докладов XV конференции садов Санкт-Петербурга. СПб. 2014. С. 106–109.
- Морозова О.В., Коваленко А.Е., Ребриев Ю.А. и др. (Morozova et al.). Агарикоидные и гастероидные грибы парка Ботанического сада Ботанического института им. В.Л. Комарова // Ботаника: история, теория, практика (к 300-летию основания Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук): труды международной научной конференции. СПб. 2014. С. 142–149.
- Попов Е.С. (Поров) Дискомицеты Ботанического сада Петра Великого // Ботаника: история, теория, практика (к 300-летию основания Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук): труды международной научной конференции. СПб., 2014. С. 166–169.
- Летний сад. Возрождение (Summer garden). СПб.: Северо-славянское бюро рекламы, 2012. 139 с.
- Шубин В.И. (Shubin). Микотрофность древесных пород. Значение при разведении леса в таежной зоне. Л.: Наука, 1973. 264 с.

Mycorrhiza of Linden (*Tilia* spp.) in Artificial Plantings of Saint Petersburg

V. A. Dudka^{a, #}, E. F. Malysheva^{a, ##}, V. F. Malysheva^{a, ###}, and E. A. Zhukova^{b, ####}

^a V.L. Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, 197376 St. Petersburg, Russia

^b The State Russian Museum, 191186 St. Petersburg, Russia

[#] e-mail: VDudka@binran.ru

^{##} e-mail: e_malysheva@binran.ru

^{###} e-mail: v_malysheva@binran.ru

^{####} e-mail: ealukmazova@mail.ru

This study was devoted to the mycorrhizal colonization of three linden species (*Tilia cordata*, *T. platyphyllos* and *T. ×europaea*) in the urban environment of Saint Petersburg. The study was conducted on three model territories: Summer Garden, Botanical Garden and Duderhof Heights. During the study, data was obtained on the morphology and anatomy of the mycorrhizal structures in linden trees, molecular identification of the mycorrhizal symbionts and the influence of certain soil characteristics on the ectomycorrhizal fungi (EMF) diversity. Light microscopy confirmed the double mycorrhizal colonization characteristic of the genus *Tilia*: arbuscular mycorrhiza (AM) and ectomycorrhiza (EM). In all the trees studied, the root tips had intensive mycorrhizal colonization. EM colonization rates varied depending on the linden species and only slightly on the season and location, while AM colonization rates varied with the season, place and linden species. In some of the trees studied, the presence of fine root endophytes was found. nrITS was used for molecular identification of the EM symbionts of linden trees. As a result, 58 taxa of EMF were identified. The main ectomycorrhizal symbionts identified for *Tilia* were basidiomycetes *Inocybe*, *Tomentella*, *Sebacina* and *Entoloma*, and ascomycetes *Tuber* and *Peziza*. Among the identified EMF taxa, 13 taxa were observed for the first time for *T. cordata*, 12 – for *T. platyphyllos*, and 8 – for *T. ×europaea*. The taxonomic diversity of EMF varied depending on the species of linden, season, and location of trees. For the study of the influence of soil characteristics on the composition of EMF communities, the soil was analyzed for nitrate nitrogen (NO₃⁻) and mobile phosphorus (P₂O₅) concentration and pH. Among the studied soil parameters, the EMF biodiversity was mainly affected by changes in the values of mobile phosphorus and nitrate nitrogen, and an increase in soil pH led to a depletion of the diversity of EMF taxa.

Keywords: arbuscular mycorrhiza, diversity of symbionts, ectomycorrhiza, nrITS

ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ, БИОТЕХНОЛОГИЯ

УДК 631.46 + 579.61 + 579.66

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ И АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛЯРНЫХ ШТАММОВ ПОЧВЕННЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ

© 2021 г. Д. А. Никитин^{1,*}, В. С. Садыкова^{2,4,**}, А. Е. Куварина^{2,***},
А. Г. Дах^{2,****}, М. В. Бирюков^{3,*****}

¹ Почвенный институт им. В.В. Докучаева, 119017 Москва, Россия

² Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАН, 119021 Москва, Россия

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Россия

⁴ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, 117997 Москва, Россия

*e-mail: dimnik90@mail.ru

**e-mail: sadykova_09@mail.ru

***e-mail: nastena.lysenko@mail.ru

****e-mail: alex1_96@list.ru

*****e-mail: metrim@gmail.com

Поступила в редакцию 10.04.2020 г.

После доработки 15.09.2020 г.

Принята к публикации 19.11.2020 г.

Оценена способность к продукции вторичных метаболитов: индуцибельных ферментов (некоторые гидролазы и оксидазы) и антибиотиков для почвенных штаммов микромицетов Арктики (Земля Франца-Иосифа, Новая Земля) и Антарктиды (оазисы Холмы Тала, Холмы Ларсеманн, Ширмахера, Земля Мери Бэрд). Максимальная эстеразная активность обнаружена у штаммов типичных антарктических видов *Hyphozyma variabilis* 218 и *Thelebolus ellipsoideus* 210 – 51 и 29 нмоль ФДА/г мицелия × час соответственно. Наибольшие значения целлюлолитической активности – 89 мкмоль глюкозы/мг биомассы – отмечены у *Ascochyta pisi* 192. Активности внеклеточных фенолоксидаз лакказ и пероксидаз среди протестированных штаммов не обнаружено. Антибактериальная активность к *B. subtilis* ATCC 6633 выявлена у 75% исследованных антарктических штаммов микромицетов. Высокоактивные штаммы выделены из богатых органикой и влагой биотопов с моховым/лишайниковым покровом. Наибольшую активность проявили *Paecilomyces marquandii* 166, *Penicillium janczewskii* 165, *Penicillium roseopurpureum* 169 и *Thelebolus ellipsoideus* 210. Антагонистическую активность по отношению к антарктическим штаммам бактерий проявляло 77% протестированных штаммов грибов. Максимальное ингибирование обнаружено у штаммов типичных для Антарктиды *Antarctomyces psychrotrophicus* MT303855, а также эвриотопного *Sarocladium kiliense* MT303856. Антимикотическая активность проявилась у 42% исследованных штаммов. У 38% антарктических штаммов выявлены оба типа активности.

Ключевые слова: Антарктида, антибиотическая активность, Арктика, микроорганизмы, микромицеты, ферментативная активность

DOI: 10.31857/S0026364821010086

ВВЕДЕНИЕ

Суровые климатические условия полярных регионов обуславливают отсутствие в биогеоценозах многих групп растений и животных, но доминирование там микроорганизмов (Makhalanyane et al., 2016). Относительно полно изучено их таксономическое разнообразие и приуроченность к субстратам (Gupta et al., 2015; Maxime et al., 2017). Однако, мало информации о физиологии и биохимии штаммов Арктики и Антарктики (Cowan et al., 2014; Vaca, Chávez, 2019; Margesin, Collins, 2019). Многие штаммы экстремально холодных местообитаний, благодаря длительной географической изоляции и чрезвычайно низким темпера-

турам, имеют генетические особенности и специфику метаболизма (Lasek et al., 2017). В частности, они могут продуцировать специфические вторичные метаболиты, помогающие им выжить в экстремально холодных и сухих условиях (Hamdan, 2018; Vaca, Chávez, 2019). Вторичные метаболиты представляют собой небольшие органические молекулы, которые не важны для роста, развития и размножения, но обеспечивают им конкурентные преимущества по сравнению с другими микроорганизмами в естественной среде (Brakhage 2013; Bell et al., 2013; Vaca, Chávez, 2019). Этот класс веществ выполняет, например, такую важную экологическую функцию как химическая защита и

могут выступать как факторы вирулентности (Macheleidt et al., 2016; Vaca, Chávez, 2019). Среди таких метаболитов обнаруживают антибиотики и активные при низких температурах ферменты (Gupta et al., 2015; Pudasaini et al., 2017; Fendrihan, Negoită, 2017; Vaca, Chávez, 2019). Предполагается, что определенный биотехнологический потенциал имеют психрофильные и психротолерантные штаммы микромицетов, преимущественно обитающие в полярных регионах (Fendrihan, Negoită, 2017; Prakash et al., 2019; Singh, Kanchana, 2019; Vaca, Chávez, 2019).

Большинство работ по анализу ферментативной активности микобиоты Арктики и Антарктиды проведено в отношении экзоферментов. Особенно подробно проанализированы культуральные липазы и амилазы, активные при низких температурах, для психрофильных дрожжей (Al-Maqtari et al., 2019) и мицелиальных микромицетов (Singh, Kanchana, 2019). Так, экстремофильные штаммы видов *Rhodotorula glacialis*, *R. psychrophenolica* имеют альфа-амилазы, работающие в диапазоне от 4 до 20°C (Singh et al., 2014). Много ценных для промышленности липаз найдено у высокоширотных штаммов *Alternaria* sp., *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium cladosporioides* и *Phoma* sp. (Prakash et al., 2019; Singh, Kanchana, 2019). Имеются данные о фосфотазной активности дрожжей экстремально холодных биотопов. Например, антарктический штамм *Mrakia* sp. показал высокие значения по этому параметру при температурах от 4 до 15°C (Gupta et al., 2015), а у психротолерантных изолятов *Aspergillus niger* и *Penicillium citrinum* выявлена работа фосфотаз даже при околонулевых температурах (Singh, Kanchana, 2019). В биотехнологическом плане показана перспективность хитиназ и гемицеллюлаз (манназы и ксиланазы) полярных штаммов микромицетов (Fenice et al., 2012; Vaca, Chávez, 2019).

Мало сведений в литературе содержится о таких важных для функционирования экосистем экзоферментов как целлюлазы и эстеразы у психрофильных и психротолерантных штаммов грибов (Singh, Kanchana, 2019). Так, представители родов *Cadophora* и *Cladosporium* из антарктических биотопов имеют целлюлазы, хорошо работающие при околонулевых температурах (Duarte et al., 2018). В значительной части этих работ результаты ферментативной активности оценены лишь качественно, а не количественно (Krishnan et al., 2011). Для понимания функционального потенциала микробиома биогеоценозов важно также иметь сведения о разложении сложного по строению, но распространенного полимера — лигнина, в экстремально холодных экосистемах. Сейчас нет данных, подтверждающих наличие лигнинолитической активности у штаммов микромицетов и дрожжей, выделенных из Антарктиды (Duarte et al., 2018).

Опубликовано мало статей по эндоферментам арктических и антарктических штаммов микроскопических грибов (Vaca, Chávez, 2019). В первую очередь, имеются данные по антиоксидантным ферментам — супероксиддисмутазам и каталазам (Abrashev et al., 2016; Duarte et al., 2018). Эти ферменты имеют важное значение в стрессовых условиях с чрезвычайно низкими температурами и высоким уровнем ультрафиолетового излучения (как, например, в высокогорных и полярных регионах), резко повышающим количество активных форм кислорода в клетке.

В настоящее время микологи все чаще ищут продуцентов антибиотиков в местообитаниях с экстремальным климатом, поскольку у таких штаммов обнаруживают новые и высокоэффективные биологически активные соединения (Fendrihan, Negoită, 2017; Singh, Kanchana, 2019). Большинство антибиотиков получено при исследовании почвенных штаммов микромицетов умеренных и тропических экосистем (Егоров, 2004; Kawaguchi et al., 2013). Возможности микромицетов с пониженным температурным оптимумом роста как продуцентов антибиотиков плохо изучены. Несмотря на это, изоляты микроорганизмов из чрезвычайно холодных экосистем являются перспективными объектами для поиска новых антибиотиков (Tosi et al., 2010). Такие исследования проведены в основном в отношении антарктических штаммов бактерий (Gesheva, 2010; Tomova et al., 2015), в то время как антимикробной активности микромицетов субстратов Антарктиды до последних лет почти не уделялось внимания (Giudice, Fani, 2016; Vaca, Chávez, 2019).

Разнообразие биологически активных соединений грибов Арктики и Антарктиды пока слабо изучено, но в последние годы появляется все больше информации об их антимикробном потенциале и способности синтезировать антибиотики. На настоящий момент большинство продуцентов полярных штаммов микромицетов относятся к роду *Penicillium* (Kumar et al., 2018). Например, арктический изолят *P. nalgiovense* синтезировал амфотерицин В (Svahn et al., 2015), а штамм *Geomyces* sp. 2481 — антимикотик геомицин В и антибактериальный компонент геомицин С (Vaca, Chávez, 2019). Считается, что даже известные антибиотики психрофильных и психротолерантных штаммов по структуре несколько отличаются от продуцируемых гомологов мезофильных культур грибов (Sánchez et al., 2008), что важно в борьбе с толерантными формами патогенных для человека микроорганизмами, резистентными к обычным антибиотикам.

Целью работы стала оценка потенциала ферментативной (некоторые индуцибельные гидролазы и оксидазы) и антибиотической активности ряда полярных штаммов микромицетов разных систематических групп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Тестируемые штаммы. Для оценки антагонистической и ферментативной активности выбраны арктические и антарктические штаммы микромицетов, характерные для высокоширотных экотопов (виды родов *Antarctomyces*, *Hyphozyma*, *Thelebolus*); фитопатогены (представители родов *Ascochyta*, *Botrytis*, *Leptosphaeria*, *Phoma*); синтезирующие антибиотики или токсины (виды родов *Botrytis*, *Penicillium*, *Sarocladium*, *Thelebolus*); недавно описанные (не ранее 2009 г.) виды микромицетов (*Atrididymella muscivora*, *Cadophora novi-eboraci*, *Exophiala tremulae*, *Phialocephala lagerbergii*); редкие для Антарктиды виды (*Eurotium niveoglaucum*, *Leuconospora polypaeciloides*) (табл. 1). Из 29 протестированных изолятов микроскопических грибов 10 штаммов (роды *Antarctomyces*, *Geomyces*, *Thelebolus*) принадлежали к порядку *Pezizales*, 8 штаммов (роды *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces*) — к порядку *Eurotiales*, 4 штамма (род *Cladosporium*) — к порядку *Capnodiales*, 2 штамма (роды *Acremonium*, *Sarocladium*) к порядку *Hypocreales*, 2 штамма (род *Phoma*) — к порядку *Pleosporales*, 1 штамм (род *Mortierella*) — к порядку *Mortierellales*, 1 штамм (род *Cadophora*) — к порядку *Helotiales*, 1 штамм (род *Geotrichum*) — к порядку *Saccharomycetales*. Всего протестировано 29 штаммов, относящихся к 13 родам и 23 видам.

Микробиологический посев исследуемых штаммов осуществляли на ряд общепринятых агаризованных сред: Чапека (ЧА), глюкозо-пептонно-дрожжевую (ГПД), голодный агар (ГА), картофельно-декстрозный агар (КДА), сусло-агар и щелочной агар (ЩА) (рН 8–9) (Domsch, 2007). Для всех изолятов микроскопических предварительно проведена идентификация по культурально-морфологическим (Domsch, 2007) или молекулярно-биологическим признакам (по анализу участков ITS1–ITS2 рДНК). Выделение ДНК из чистых культур микромицетов проводили по методике Глушаковой с соавторами (Glushakova et al., 2011): биомассу 5–6-суточной культуры переносили в 2 мл эппендорфы, добавляли 400 мкл стеклянных шариков (300–500 мкм диаметром) и 500 мкл лизирующего буфера (TrisBase 50 mM, NaCl 250 mM, ЭДТА 50 mM, SDS 0.3%, рН 8). Приготовленную смесь взбалтывали на вортексе на скорости 3500 об/мин в течение 15 мин, затем инкубировали 1 ч при температуре 65°C, после снова трясали на вортексе 15 мин и центрифугировали (13.4 g) 10 мин, отбирали надосадочную жидкость. Для амплификации региона рДНК, содержащего D1/D2 домен региона 26S рДНК, использовали праймеры ITS1f (5'CTTGGTCAATTA-GAGGAAGTA) и NL4 (5'GGTCCGTGTTCAAGAC-GG) и смеси для ПЦР ScreenMix (ЗАО “Евроген”, Москва). Амплификатор использовали по следующей программе: (начальная денатурация — 2 мин при температуре 96°C; затем 35 циклов: денатура-

ция — 20 с при температуре 96°C, отжиг праймеров — 50 с при температуре 52°C, синтез ДНК — 1.5 мин при температуре 72°C; конечная достройка 7 мин при температуре 72°C). Очистку ПЦР-продукта проводили с использованием набора BigDye XTerminator Purification Kit (“Applied Biosystems”, USA). Для секвенирования использовали праймер NL4. Секвенирование ДНК проводили с помощью набора реактивов BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit (“Applied Biosystems”, USA) с последующим анализом продуктов реакции на секвенаторе Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer в Научно-производственной компании “Синтол” (Москва). Идентификацию по полученным хроматограммам проводили, используя данные генбанка NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) и CABI Bioscience Database Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>).

Идентификацию большинства бактериальных изолятов осуществляли с помощью анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК. ДНК экстрагировали из клеток в экспоненциальной фазе роста с помощью Трис-ЭДТА буфера (10 mM Трис, 1 mM ЭДТА, рН 8.0) с добавлением 5% Triton X-100. Биомассу бактерий собирали с чашек Петри, суспендировали в 500 мкл буфера, обрабатывали на вортексе в течение 5 минут при 2000 об./мин и кипятили в течение 15 минут. Затем добавляли около 100 мг стеклянных шариков (диаметром около 250–300 мкм) и обрабатывали на гомогенизаторе Minilys (Bertin instruments, США) в течение 30 с при 5000 об./мин. Далее лизаты центрифугировали в течение 3 минут при 13400 об./мин. Супернатант использовали в качестве матрицы при постановке полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для постановки ПЦР использовали готовую ПЦР-смесь ScreenMix (Евроген, Россия). ПЦР проводили в амплификаторе T-100 (BioRad, США). ПЦР проводили с использованием праймеров 63F + 1387R. Полученные ПЦР-продукты были очищены и секвенированы компаниями “Синтол” и “Евроген” (Москва, Россия) с использованием праймеров 1100R, 805R и 537R. Редактирование нуклеотидных последовательностей выполняли с помощью программы Chromas Lite 2.01 (<http://www.technelysium.com.au>). Для выравнивания, сравнения и идентификации нуклеотидных последовательностей использовали программу Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) и алгоритм BLAST базы данных GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Результаты сиквенсов культур микромицетов и бактерий размещены в генбанке NCBI (<https://submit.ncbi.nlm.nih.gov/subs/>).

В работе использовали штаммы микромицетов отдела *Ascomycota*, преимущественно порядков *Eurotiales* и *Hypocreales*. Название видов даны по телеоморфной стадии, если они формировали половые структуры при выделении и последующем культивировании на питательных средах. Для

Таблица 1. Полярные штаммы, выбранные для оценки антагонистической и ферментативной активности

Вид [штамм]	Характеристики местообитания	Примечание	Вид [штамм]	Характеристики местообитания	Примечание
<i>Geomyces pannorum</i> (Link) Sigler et J.W. Carmich. [1]	Россия, Архангельская обл., Новая Земля, Ледяная Гавань, пелозем гумусовый мерзлотный (LG-17), горизонт C _{Ca}	Э; П; С; СР	* <i>Cladosporium clado- sporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries [MT303853]	Россия, Архангельская обл., Земля Франца-Иосифа, остров Нортбрук, альго-бактериальный мат в Долине Ветров	Э; П; Ф
<i>G. pannorum</i> [2]	Россия, Архангельская обл., Новая Земля, мыс Желания, криозем (CJ-23), горизонт CR _{gCa}		* <i>Penicillium crusto- sum</i> Thom [MT303854]	Россия, Архангельская обл., Земля Франца-Иосифа, остров Нортбрук, почва с птичьего базара	Э; П; СР
<i>G. pannorum</i> [3]	Архангельская обл., Новая Земля, Бухта Благополучия, криозем грубогумусовый (BB-10), горизонт CR		* <i>Antarctomyces psy- chrotrophicus</i> Stchigel et Guarro [MT303855]	Россия, Архангельская обл., Земля Франца-Иосифа, остров Нортбрук, моховый очес ненарушенного ландшафта	С; П; К
<i>G. pannorum</i> [4]	Россия, Архангельская обл., Новая Земля, Ледяная Гавань, пелозем гумусовый мерзлотный (LG-12), горизонт W _{Ca}		* <i>Sarocladium kiliense</i> (Grütz) Summerb. [MT303856]	Россия, Архангельская обл., Земля Франца-Иосифа, остров Нортбрук, моховый очес ненарушенного ландшафта	Э; Ф;
<i>Cladosporium</i> sp. [5]	Россия, Архангельская обл., Новая Земля, Бухта Благополучия, криозем грубогумусовый (BB-9), горизонт АО _{Ca}	Э; П; Ф	<i>Aspergillus flavus</i> Link [293]	Россия, Архангельская обл., Земля Франца-Иосифа, остров Нортбрук, куртины злаков, антропогенно-нарушенный ландшафт	Э; СР; СН
<i>Cladosporium</i> sp. [6]	Россия, Архангельская обл., Новая Земля, Русская Гавань, пелозем гумусовый мерзлотный (RG-5), горизонт W _{Ca}	Э; П; Ф	<i>A. fumigatus</i> Fresen. [294]	Россия, Архангельская обл., Земля Франца-Иосифа, остров Нортбрук, куртины злаков, антропогенно-нарушенный ландшафт	Э; СР; СН
<i>Cladosporium</i> sp. [7]	Россия, Архангельская обл., Новая Земля, Русская Гавань, пелозем мерзлотный остаточного-карбонатный (RG-7), горизонт ОС _{Ca}	Э; П; Ф	<i>Phoma leveillei</i> Boerema et G.J. Bollen [161]	Антарктида, ст. Молодежная, оазис Холмы Тала, озерная депрессия, глеезем с сульфидным засолением, гор-нт Oalgae-bact/W	С; П; Ф
<i>Penicillium</i> sp. [8]	Россия, Архангельская обл., Новая Земля, мыс Желания, пелозем мерзлотный остаточного-карбонатный (CJ-25), горизонт C _{Ca}	Э; П; СР	<i>Ph. violacea</i> (Bertel) Eveleigh [214]	Антарктида, ст. Прогресс, оазис Холмы Ларсеманн, горизонт W	С; П; Ф

Таблица 1. Продолжение

Вид [штамм]	Характеристики местообитания	Примечание	Вид [штамм]	Характеристики местообитания	Примечание
<i>Penicillium</i> sp. [9]	Россия, Архангельская обл., Новая Земля, мыс Желания, пелозем мерзлотный остаточно-карбонатный (СJ-25), горизонт С _{Ca}	Э; П; СР	<i>Sarocladium kiliense</i> Grütz [207]	Антарктида, ст. Ново-лазаревская, оазис Ширмахер, нефтезагрязненный полигон	Э; П; Ф
<i>Penicillium expansum</i> Link [10]	Россия, Архангельская обл., Новая Земля, Русская Гавань, пелозем мерзлотный (RG-4), горизонт ОС	Э; П; СР	<i>Talaromyces flavus</i> (Klöcker) Stolk et Samson [170]	Антарктида, ст. Русская, борт долины, “каменная мостовая”, горизонт B1	Э; СР
<i>P. expansum</i> [11]	Россия, Архангельская обл., Новая Земля, Русская Гавань, пелозем гумусовый мерзлотный (RG-5), горизонт W _{Ca}	Э; П; СР	<i>Thelebolus ellipsoideus</i> Brumm. et de Hoog [210]	Антарктида, ст. Прогресс, днище влажной долины с моховыми подстилками, гор-т B _{2fungi}	С; П; К
<i>Mortierella</i> sp. [12]	Россия, Архангельская обл., Новая Земля, Ледяная Гавань, пелозем гумусовый мерзлотный (LG-12), горизонт W _{Ca}	Э; П; О	<i>Thelebolus globosus</i> Brumm. et de Hoog [212]	Антарктида, ст. Прогресс, оазис Холмы Ларсеманн, горизонт G ₁ (оглеенный)	С; П; К
* <i>Cadophora luteo-olivacea</i> (J.F.H. Beyma) T.C. Harr. et McNew [MT303851]	Россия, Архангельская обл., Земля Франца-Иосифа, остров Нортбрук, примитивная почва без растительного покрова, Долина Ветров	Н; П; Ф	<i>Th. microsporus</i> (Berk. et Broome) Kimbr. [125]	Антарктида, ст. Молодежная, оазис Холмы Тала, влажная долина, почва под моховыми и лишайниковыми подстилками	С; П; К
* <i>Acremonium zonatum</i> (Sawada) W. Gams [MT303852]	Россия, Архангельская обл., Земля Франца-Иосифа, остров Нортбрук, дернина злаковых ассоциаций	Э; Ф	<i>Th. microsporus</i> [202]	Антарктида, ст. Новолазаревская, оазис Ширмахер, нефтезагрязненный полигон	С; П; К
<i>Geotrichum candidum</i> Link [287]	Россия, Архангельская обл., Земля Франца-Иосифа, остров Нортбрук, куртины злаков, антропогенно-нарушенный ландшафт	Э; П; О	<i>Th. microsporus</i> [209]	Антарктида, ст. Прогресс, оазис Холмы Ларсеманн, днище влажной долины, “каменная мостовая”	С; П; К

Примечание. *Культуры определены по анализу участков ITS1–ITS2 рДНК (Gluschakova et al., 2011). Буквами обозначены: Э – эвритоп; С – стенофит полярных широт; Ф – экологически связан с растениями (часто фитопатоген); П – психротолерант/психрофил; СР – сапротроф; К – копротроф; О – олиготроф; СН – синантропный вид; Н – недавно открытый вид.

остальных аскомицетов названия приведены по анаморфной стадии. Изученные штаммы микромицетов выделены из почв Земли Франца-Иосифа, севера Новой Земли, а также антарктических оазисов Холмы Тала, Холмы Ларсеманн, Ширмахера и Земли Мери Бэрд. Штаммы хранятся в коллекции кафедры Биологии почв факультета Почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова. Характеристика мест отбора образцов, из которых произведено выделение исследуемых штаммов,

приведена в таблице 1. Сбор образцов проведен в различных биотопах: от бесплодных и сухих “каменных мостовых”, реголитов до богатых органическим веществом и растениями, а также влажных моховых очесов и озерных сапропелей. В работе применен профильно-генетический подход почвоведения, когда образцы почвы отбирают не только из поверхностного слоя, но и из глубинных горизонтов, что важно с точки зрения генетического почвоведения (Zhelezova et al., 2019). Все

Таблица 2. Антарктические штаммы бактерий и актиномицетов, использованные в качестве тест-культур

Вид, штамм	Высшие таксоны	Местообитание
<i>*Bosea robiniae</i> NR_108516.1	P: AP: R	Антарктида, ст. Прогресс, оазис Холмы Ларсеманн, микроложбин, без мхов, минер. материал под “каменной мостовой”, горизонт В ₁
<i>*Brevundimonas denitrificans</i> NR_133989.1	P: AP: CB	
<i>*Pseudomonas veronii</i> H NR_112075.1	P: G: PM	
<i>*Sphingomonas leidy</i> NR_112027.1	P: AP: SM	
<i>*S. echinoides</i> NR_113806.1	P: AP: SM	
<i>*Sphingopyxis bauzanensis</i> NR_117213.1	P: AP: SM	
<i>*Delftia acidivorans</i> NR_113708.1	P: BP: BD	
<i>*Ralstonia pickettii</i> NR_114126.1	P: BP: BD	
<i>*Sphingomonas molluscorum</i> NR_041399.1	P: AP: SM	
<i>*S. leidy</i> NR_025324.1	P: AP: SM	
<i>*Stenotrophomonas maltophilia</i> NR_112030.1	P: G: X	
<i>*Variovorax soli</i> NR_043811.1	P: BP: BD	
<i>*Arthrobacter russicus</i> NR_024783.1	AB: AB: AM	
<i>Bacillus megaterium</i>	F: BL: BLL	Антарктида, ст. Прогресс, оазис Холмы Ларсеманн, днище влажной долины со мхами, грубый и средний песок, местами органогенный материал, горизонт О
<i>Bacillus</i> sp.	F: BL: BLL	
<i>Myxococcus</i> sp. 1	P: DP: M	
<i>Myxococcus</i> sp. 2	P: DP: M	
<i>*Streptomyces tanashiensis</i> MT394921	AB: AB: AM	
<i>*S. roseoviolascens</i> MT394922	AB: AB: AM	Антарктида, ст. Молодежная, оазис Холмы Тала, Влажная долина WV-I, дно ручья, type I, профиль AD-58-43, горизонт GP _{algae}
		Антарктида, ст. Молодежная, оазис Холмы Тала, профиль AD-58-40, внешняя зона долины, структурные грунты, без макрорастительности, “безгумусная почва”, горизонт В

Примечание: *Культуры определены по анализу 16S рДНК.

почвенные образцы отобраны со всеми возможными мерами по предотвращению контаминации и до начала исследования хранились в морозильной камере при температуре -18°C . Выделение микромицетов из образцов почвы проводили методом микробиологического посева “оживленных” (выдержанных сутки при комнатной температуре) почвенных суспензий (Marfenina et al., 2016). Для минеральных почвенных горизонтов применяли сукцессионный подход при посеве, выдерживая образцы при повышенных температурах и влажности (Nikitin et al., 2017).

В качестве тест-культур для изучения антагонистической активности использованы коллекционные тест-культуры *Bacillus subtilis* ATCC 6633 и *Aspergillus niger* INA 00760, из коллекции Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАН, а также 19 грамположительных и грамотрицательных штаммов бактерий и актиномицетов, выделенных из почв Антарктиды (оазис Холмы Ларсеманн), из бактериологической коллекции кафедры Биологии почв факультета почвоведения МГУ (табл. 2).

Оценка ферментативной активности микромицетов. Для оценки ферментативной активности штаммов применяли метод флуориметрического определения продукта гидролиза флуоресцеина диацетата (ФДА) (Schnürer, Rosswall, 1982). Это вещество гидрофобно, поэтому вначале его растворяли в ацетоне с концентрацией 20 мг/мл, а затем 100 мкл полученного раствора разводили в 20 мл фосфатного буфера. В ячейки 96-луночного планшета вносили по 50 мкл исследуемых культуральных жидкостей (КЖ). Их получали путем выращивания культуры в колбах с неагаризованной средой и последующим фильтрованием через фильтр (диаметр пор 0.45 мкм) под вакуумом. К КЖ в планшете добавляли по 200 мкл раствора ФДА в фосфатном буфере (pH = 7.6). Планшет инкубировали при температуре 37°C в течение 1 ч. Измерение интенсивности флуоресценции проводили на микропланшетном сканере Infinite® F200 (Tecan) Ex 485 nm; Em 520 nm. По значениям интенсивности флуоресценции растворов с известной концентрацией ФДА была построена градуировочная кривая. По ней определяли концен-

трацию образовавшегося ФДА в исследуемых образцах.

Активность внеклеточных целлюлаз у штаммов изучали путем гидролиза суррогатного субстрата карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) фотометрическим определением продукта реакции (восстанавливающего сахара) после дериватизации его с применением динитросалициловой кислоты (ДНС) (Silveira et al., 2014). Реакция гидролиза осуществлялась в 100 мМ ацетат-аммонийном буфере (рН 4.5). Раствор КМЦ концентрации 20 г/л готовили путем последовательного растворения его небольшими порциями в буфере на магнитной мешалке для предотвращения образования нерастворимых коагулятов. Для приготовления ДНС-реагента в 20 мл раствора 2М NaOH порциями, при нагревании и постоянном перемешивании, вносили 1 г динитросалициловой кислоты. После ее растворения в полученный раствор также при постоянном помешивании вносили 30 г сухой сегнетовой соли. После полного растворения продолжали перемешивание до охлаждения раствора. Его объем доводили до 100 мл дистиллированной водой, раствор до использования хранился в темноте. Перед измерением активности исследуемых КЖ готовили серию стандартных растворов глюкозы в водном растворе ацетатного буфера с концентрациями: 0.05, 0.025, 0.01, 0.0075, 0.0050 мг/мл. Добавляли 450 мкл полученных растворов в эппендорфы объемом 1.5 мл, доливали в них по 50 мкм КЖ. Затем вносили по 400 мкл заранее приготовленного раствора 2% КМЦ в ацетатно-аммонийном буфере. Эппендорфы инкубировали в течение 1 ч при температуре 37°C. После этого в них добавляли по 450 мкл ДНС-реагента, а в микропробирки на 1.5 мл со стандартными растворами глюкозы — по 450 мкл ДНС-реагента. Все эппендорфы нагревали до 95°C в течение 5 мин. Полученные суспензии центрифугировали в течение 3 мин при частоте 12000 оборотов в минуту на центрифуге Миниспин (Эппендорф). После охлаждения до комнатной температуры отбирали по 100 мкл супернатанта из каждого эппендорфа в 96-луночный планшет. Измерение оптической плотности при длине волны 540 нм анализировали на микропланшетном сканере Infinite® F200 (Tecan). По полученным значениям для растворов с заданной концентрацией глюкозы строили градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации глюкозы. По графику вычисляли молярную концентрацию восстанавливающего сахара, образовавшегося в ходе ферментативной реакции в исследуемых КЖ.

Измерение активности внеклеточных фенолоксидаз проводили с помощью фотометрической реакции с 2,2'-азино-бис-3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислотой (АБТС) (Johannes, Majcherzyk, 2000). Реакцию осуществляли следующим образом: в лунки 96-луночного микроплшета помещали 50 мкл исследуемой КЖ, а затем

во все лунки раскапывали по 100 мкл 2 мМ раствора АБТС. Субстрат для реакции готовили так: 27 мг АБТС растворяли в 25 мл дистиллированной воды. В итоге получали концентрацию 2 ммоль/л. Планшет помещался в сканер Infinite® F200 и через заданные интервалы времени проводилось измерение увеличения оптической плотности при длине волны 420 нм. Перед анализом оптической плотности растворы взбалтывались в течение секунды. Через 15 секунд после снятия показаний с прибора повторно перемешивали растворы и опять измеряли эту величину. Такие манипуляции повторяли в течение 3 минут для определения скорости изменения оптической плотности раствора. По скорости его окрашивания в лунках анализировали активность ферментов.

Активность пероксидаз проводилась аналогично предыдущему эксперименту для внеклеточных фенолоксидаз, но добавляли перекись водорода в качестве субстрата (Takagi et al., 1995).

Оценка антимикробной активности микромицетов. Штаммы с антимикробной активностью выявляли с помощью метода диффузии антибиотических веществ в агар (Egorov, 2004). Поверхность агаризованной среды в чашках Петри засеивали газоном тест-культуры. На среду раскладывали блоки тестируемых штаммов микромицетов. Чашки инкубировали в термостате при 25–28°C. Через 24 ч их просматривали на наличие зон ингибирования роста тест-организма вокруг блоков. Считали культуры высокоактивными, если зона ингибирования роста микроорганизма составляла более 20 мм; умеренной активностью — диаметр зоны ингибирования в 10–20 мм, а слабоактивной — менее 10 мм.

Экстракцию антибиотических веществ из культуральной жидкости (КЖ) у высокоактивных штаммов проводили этилацетатом в соотношении КЖ/этилацетат (3/1) и бутанолом в соотношении КЖ/бутанол (5/1). Экстракты упаривали при 42°C до сухого остатка в вакууме досуха на роторном испарителе "Rotavapor-RBüchi" (Швейцария). Сухой остаток растворяли в водном 70%-ном этаноле. Антибиотическую активность КЖ до экстракции определяли с помощью метода лунок. Антибиотическую активность экстрактов КЖ определяли с помощью метода дисков. На стерильные бумажные диски (НИИ Пастера, Россия) наносили 100 мкг экстракта на диск и высушивали в стерильных условиях. Контролем чувствительности тест-организма служили стандартные диски с нистатином для грибов (НИИ Пастера, 80 мкг/мл) и ампициллином для бактерий (НИИ Пастера, 10 мкг/мл) (Balouiri et al., 2016). Высушенные диски с экстрактами КЖ раскладывали на засеянные тест-культурами чашки Петри с агаризованной питательной средой. Чашки инкубировали в термостате при 25–28°C. Через 24 ч измеряли диаметры зон ингибирования роста вокруг диска.

Немицелиальные грамположительные и грамотрицательные штаммы бактерий из антарктических субстратов культивировали на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде (ГПД) с глицерином. Для выращивания актиномицетов использовали агаризованную среду Гаузе-1 (Corry et al., 2011). Тест-культуру *Bacillus subtilis* ATCC 6633 выращивали на МПА, *Aspergillus niger* INA 00760 — на агаризованной среде Чапека (ЧА). Все эксперименты по определению антагонистической активности проведены в 3–5 повторностях. Оценка достоверности различий средних значений дана по критерию Стьюдента для уровня вероятности не менее 95% с использованием пакета программ Microsoft Excel 2016 и Statistica 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ферментативная активность полярных штаммов микромицетов. Оценена активность гидролаз у 9 антарктических штаммов микромицетов (*Antarctomyces psychrotrophicus* MT303855, *Ascochyta pisi* 192, *Coniothyrium glomeratum* 127, *Hyphozyma variabilis* 218, *Penicillium roseopurpureum* 169, *Phoma leveillei* 161, *Ph. violacea* 214, *Thelebolus ellipsoideus* 210, *T. microsporus* 202). Такой выбор обусловлен следующими причинами. Часть видов (*Antarctomyces psychrotrophicus*, *Hyphozyma variabilis*, *Phoma leveillei*, *Ph. violacea*, *Thelebolus ellipsoideus*, *Th. microsporus*) типична для антарктических субстратов (Arenz, Blanchette, 2011; Marfenina et al., 2016; Nikitin et al., 2017); другие — *Ascochyta pisi*, *Coniothyrium glomeratum*, *Penicillium roseopurpureum* — эвритофы, которые могли быть инвазивно привнесены на материк. Кроме того, судя по литературным данным (Krishnan et al., 2011), все виды, у которых оценивалась активность ферментов в данной работе, обладают хотя бы небольшой целлюлолитической активностью, что важно для наших исследований. Виды микромицетов, протестированные только на антагонизм по отношению к бактериям или грибам (*Aspergillus sclerotiorum* 137, *Eurotium niveoglaucum* 117, *Exophiala tremulae* 126, *Lecanicillium fungicola* 121, *Paecilomyces marquandii* 166, *Penicillium chrysogenum* 162, *Sarocladium kiliense* 207, *Talaromyces flavus* 170) редко обнаруживаются микологами в субстратах Антарктиды (Rosa et al., 2019).

Активность наиболее распространенных гидролаз — эстераз, по которым можно оценить общую активность культур (Krishnan et al., 2011), изучена на примере разложения микромицетами флуорисцеина диацетата (ФДА). Все штаммы, росшие на среде ГПД, показали более высокие результаты активности эстераз, чем при культивации на ЧА (рис. 1). Наибольшая эстеразная активность (51 нмоль ФДА/г мицелия × час) обнаружена у штамма типичного антарктического вида *Hyphozyma variabilis*. У этой же культуры отмечена максимальная разница (на порядок) между значениями, полученными при культивации на двух ис-

пользуемых средах. ГПД богаче разнообразными субстратами для гидролаз (пептоном, водорастворимыми фракциями свободных пептидов и аминокислот, глюкозой), чем среда ЧА с единственным органическим субстратом — сахарозой. Поэтому отмечали столь существенную разницу в полученных результатах. Штамм характерного для Антарктиды *Thelebolus ellipsoideus* 210 на среде ГПД также проявил высокую активность эстераз (29 нмоль ФДА/г мицелия × час). Штаммы *Coniothyrium glomeratum* 127 и *Thelebolus microsporus* 202 оказались самыми активными на ЧА и показали наименьшие различия (сопоставимые с погрешностями) в выходных данных при культивировании на обеих средах. По всей видимости, эти микромицеты могут более полно усваивать относительно бедный субстрат. Особенно это актуально для психротолерантного штамма № 202, типичного для олиготрофных биотопов Антарктиды (De Hoog et al., 2004).

Активность целлюлаз — один из важнейших параметров функционирования микроорганизмов с точки зрения экологии (Gupta et al., 2015) — исследована для 6 антарктических штаммов (*Antarctomyces psychrotrophicus* MT303855, *Ascochyta pisi* 192, *Leptosphaeria coniothyrium* 163, *Paecilomyces marquandii* 166, *Phoma violacea* 214, *Thelebolus microsporus* 202), культивируемых при различных условиях (температурах и средах). Нашей целью было сравнение способности к разложению целлюлозы штаммами в эксперименте, моделирующем микроклимат холодных (биотоп с моховым покровом; моделируемая температура 5°C) и теплых (биотоп без мохового/лишайникового покрова; моделируемая температура 25°C), богатых (биотоп — моховая долина; искусственный аналог — среда ГПД) и бедных (биотоп — пустошь; искусственный аналог — среда ЧА) органикой, полярных биотопов.

Максимальные значения целлюлолитической активности отмечены у *Ascochyta pisi* 192 — до 89 мкмоль глюкозы/мг сухого вещества (табл. 3). В два раза меньшие показатели — у *P. violacea* 214 и *Antarctomyces psychrotrophicus* MT303855 (до 42 мкмоль глюкозы/мг сухого вещества). Относительно высокую активность проявил штамм *Thelebolus microsporus* 202 — до 24 мкмоль глюкозы/мг сухого вещества. Целлюлолитическая активность других микромицетов мала (≤ 12 мкмоль глюкозы/мг сухого вещества). Большие результаты по этому показателю фиксировали для вариантов с используемой средой ГПД, а не с ЧА. Так, *Antarctomyces psychrotrophicus* MT303855, культивируемый на последней из указанных сред, практически не разлагал карбоксиметилцеллюлозу (КМЦ). Интенсивность деградации этого субстрата больше при низкой (5°C) температуре, чем при высокой (25°C) для всех тестируемых штаммов, кроме *Thelebolus microsporus* 202, где она оказалась примерно равной в обоих температурных условиях. Имеются данные о более полном усвоении суб-

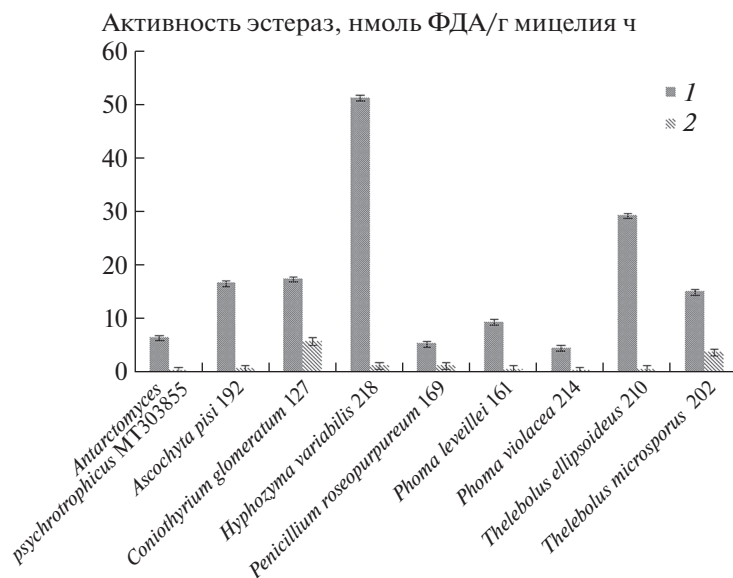


Рис. 1. Активность эстераз антарктическими штаммами микромицетов, культивируемых на средах Чапека и ГПД.

страта микроорганизмами в холодном климате, по сравнению с теплым (Maggi et al., 2013). Кроме того, исследуемые изоляты выделены из антарктических биотопов, что могло снизить температурные оптимумы работы ферментов (Tosi et al., 2010; Vaz et al., 2011). Рост *Th. microsporus* 202 при обоих температурах очень мал. Это, очевидно, могло отразиться и на результатах целлюлолитической активности. Таким образом, также как и другим авторам (Kirtsideli et al., 2010), нам удалось показать, что для одной и той же культуры активность целлюлаз может быть высокой или низкой в зависимости от конкретных параметров эксперимента.

Оценка активности внеклеточных фенолоксидаз лакказ и пероксидаз среди 10 антарктических штаммов (*Antarctomyces psychrotrophicus* MT303855, *Ascochyta pisi* 192, *Coniothyrium glomeratum* 127, *Hyphozyma variabilis* 218, *Penicillium roseopurpureum* 169, *Phoma leveillei* 161, *Phoma violacea* 214, *Talaromyces flavus* 170, *Thelebolus ellipsoideus* 210, *Thelebolus microspores* 202) показала, что ни у одной из проверенных культур этих ферментов не обнаружено. В Антарктиде практически полностью отсутствуют древесные растения. Видимо, поэтому большинство аборигенных штаммов не обладают активным ферментным комплексом для разложения лигнина (Kirtsideki et al., 2010) и проявляют низкую целлюлолитическую активность.

Антимикробная активность полярных штаммов микромицетов. Степень ингибирования роста бактерий у микромицетов разной таксономической принадлежности существенно отличалась. Антибактериальная активность к *Bacillus subtilis* ATCC 6633 выявлена у 75% протестированных антарктических штаммов микромицетов. Высокая активность (диаметр зоны ингибирования $d > 20$ мм) обнаружена только у 18% штаммов — *Penicillium*

janczewskii 165, *P. roseopurpureum* 169, *Paecilomyces marquandii* 166 и *Thelebolus ellipsoideus* 210. Данных об антагонистических веществах, продуцируемых штаммами вида *P. roseopurpureum*, немного. Для этого вида сравнительно недавно описаны розеопурпурины А–Н из класса поликетидов, обладающие активностью в отношении грамположительных бактерий (Shang et al., 2016). Для вида *Thelebolus ellipsoideus* нами впервые отмечена антимикробная активность.

Только 38% микромицетов проявляли умеренную активность ($d = 15–20$ мм): *Ascochyta pisi* 192, *Botrytis cinerea* 174, *Cladosporium tenuissimum* 184, *Clonostachys rosea* 138, *Epicoccum nigrum* 177, *Phoma leveillei* 161, *Lecanicillium fungicola* 221, *Microascus cinereus* 181, *Microsphaeropsis olivacea* 180, *Penicillium simplicissimum* 130, *Phialocephala lagerbergii* 190, *Phoma leveillei* 129, *Ph. violacea* 214 и *Thelebolus microsporus* 202. Среди них были штаммы типичных для Антарктиды видов (Rosa et al., 2019) — *Phoma leveillei*, *Ph. violacea* и *Thelebolus microsporus*.

Согласно литературным данным, для штаммов этих видов уже описан ряд антибиотиков, обладающих антибактериальным действием. Так, у штаммов вида *Epicoccum nigrum* в качестве антимикробных соединений с антибактериальной активностью описаны флавиин (Fávaro et al., 2012), эпиколоктон и эпикокколиды А и В, ингибирующие рост *Staphylococcus aureus* были выделены из почвенного изолята этого вида (Nisa et al., 2015). Баверицин, полученный из эндофитного штамма, изолированного из *Entada abyssinica* показал высокую активность *Bacillus cereus* и *Salmonella typhimurium* с соответствующими значениями МИС 3.12 и 6.25 мкг/мл (Dzoyem et al., 2017). Вероятно, поиск продуцентов антибактериальных веществ действительно стоит проводить в первую очередь

Таблица 3. Активность по гидролизу (37°C) КМЦ культур антарктических штаммов микромицетов

Вид, штамм	t, °C	Среда	Мкмоль глюкозы/1 мг сухого вещества/1 ч
<i>Antarctomyces psychrotrophicus</i> MT303855	5	ЧА	1 ± 1
	20		—
	5	ГПД	41 ± 3
	20		12 ± 1
<i>Ascochyta pisi</i> 192	5	ЧА	—
	20		—
	5	ГПД	89 ± 10
	20		7 ± 1
<i>Leptosphaeria coniothyrium</i> 163	5	ЧА	—
	20		8 ± 1
		ГПД	—
	20		3 ± 1
<i>Paecilomyces marquandii</i> 166	5	ЧА	—
	20		3 ± 1
	5	ГПД	—
	20		—
<i>Phoma violacea</i> 214	5	ЧА	—
	20		—
	5	ГПД	42 ± 3
	20		2 ± 1
<i>Thelebolus microsporus</i> 202	5	ЧА	—
	20		—
	5	ГПД	24 ± 2
	20		23 ± 2

Примечание. Прочерк означает отсутствие данных.

среди изолятов этих видов, в том числе выделенных из полярных регионов (Gonçalves et al., 2015).

Не проявили антибиотической активности 44% протестированных штаммов редких для Антарктиды видов (Arenz, Blanchette, 2011; Marfenina et al., 2016; Rosa et al., 2019): *Arthrinium sphaerospermum* 136, *Eurotium niveoglaucum* 117, *Periconia igniaria* 134, *Talaromyces flavus* 170. Они росли только при 25°C, поэтому полагаем, что эти штаммы не развиваются в нативных субстратах Антарктиды.

Максимальная доля активных штаммов (58%) выделена из оазисов Холмы Ларсеманн и Холмы Тала — примерно по 29% для каждого. Эти районы отбора образцов характеризуются наиболее суровыми климатическими условиями (Mergelov et al., 2016), что могло сыграть роль в продуцировании антибиотических веществ штаммами (Vaz et al., 2011; Gonçalves et al., 2015).

Характерно, что наиболее активные в подавлении *Bacillus subtilis* ATCC 6633 штаммы микромицетов выделены из богатых органикой и влагой

биотопов моховых и лишайниковых долин, в то время как минимальной активностью обладали штаммы из бесплодных “каменных мостовых”, сульфидных солончаков и озерных грунтов. Такая закономерность выявлена и в других работах (Vaz et al., 2011; Giudice, Fani, 2016).

Антифунгальное действие в отношении *Aspergillus niger* INA 0076 выявлено для 42% исследуемых антарктических штаммов микромицетов. Высокой антимикотической активностью (d = 27 мм) обладал только *Botrytis cinerea* 174, выделенный из биотопа под моховым покровом. Умеренную активность (d = 15–20 мм) проявили 8 протестированных штаммов: *Ascochyta pisi* 192, *Clonostachys rosea* 138, *Epicoccum nigrum* 177, *Microascus cinereus* 181, *Microsphaeropsis olivacea* 180, *Phialocephala lagerbergii* 190, *Phoma violacea* 214, *Talaromyces flavus* 170. Лишь *Paecilomyces marquandii* 166 слабо (d = 10–15 мм) ингибировал *Aspergillus niger* INA 0076.

Неактивных культур (в том числе характерных для Антарктиды *Phoma leveillei* 129 и *Thelebolus ellipsoideus* 210) значительно больше — 58%. Таким образом, показано, что антарктические штаммы разных видов микромицетов проявляют, преимущественно, антибактериальную, а не антигрибную активность. Низкой антагонистической активности (d = 1–9 мм) не выявлено ни у одного из тестируемых изолятов.

Высокая антифунгальная активность *Botrytis cinerea* — характерное явление для представителей этого рода (Castro et al., 2019). Он редок в различных субстратах Антарктиды и, по-видимому, является заносным на материке (Rosa et al., 2019). Умеренная антифунгальная активность проявлена видами, отмечаемыми исследователями в Антарктиде (Arenz, Blanchette, 2011; Marfenina et al., 2016; Rosa et al., 2019). Часто встречающиеся в антарктических почвах *Phoma leveillei* и *Thelebolus ellipsoideus* не подавляли рост *Aspergillus niger* INA 00760.

Наибольшая доля активных в отношении *A. niger* INA 00760 штаммов (26%) выявлена из почв антарктического оазиса Холмы Ларсеманн. Единственный штамм с высокой антибактериальной активностью к *Bacillus subtilis* ATCC 6633. *Penicillium roseopurpureum* 169 выделен из субстратов оазиса Холмы Тала, где среднегодовые температуры одни из самых низких среди антарктических береговых территорий (Mergelov et al., 2016).

Более трети протестированных антарктических штаммов микромицетов (38%) ингибировали рост как *Bacillus subtilis* ATCC 6633, так и *Aspergillus niger* INA 00760. Эти микромицеты, преимущественно, имели умеренную противобактериальную и антифунгальную активности. Все представители данной группы являются эвритопами. Экстремальные абиотические факторы природной среды обитания могут стимулировать антагонизм (Gesheva, 2010), поэтому полярные экосистемы весьма интересны для исследователей, занимающихся по-

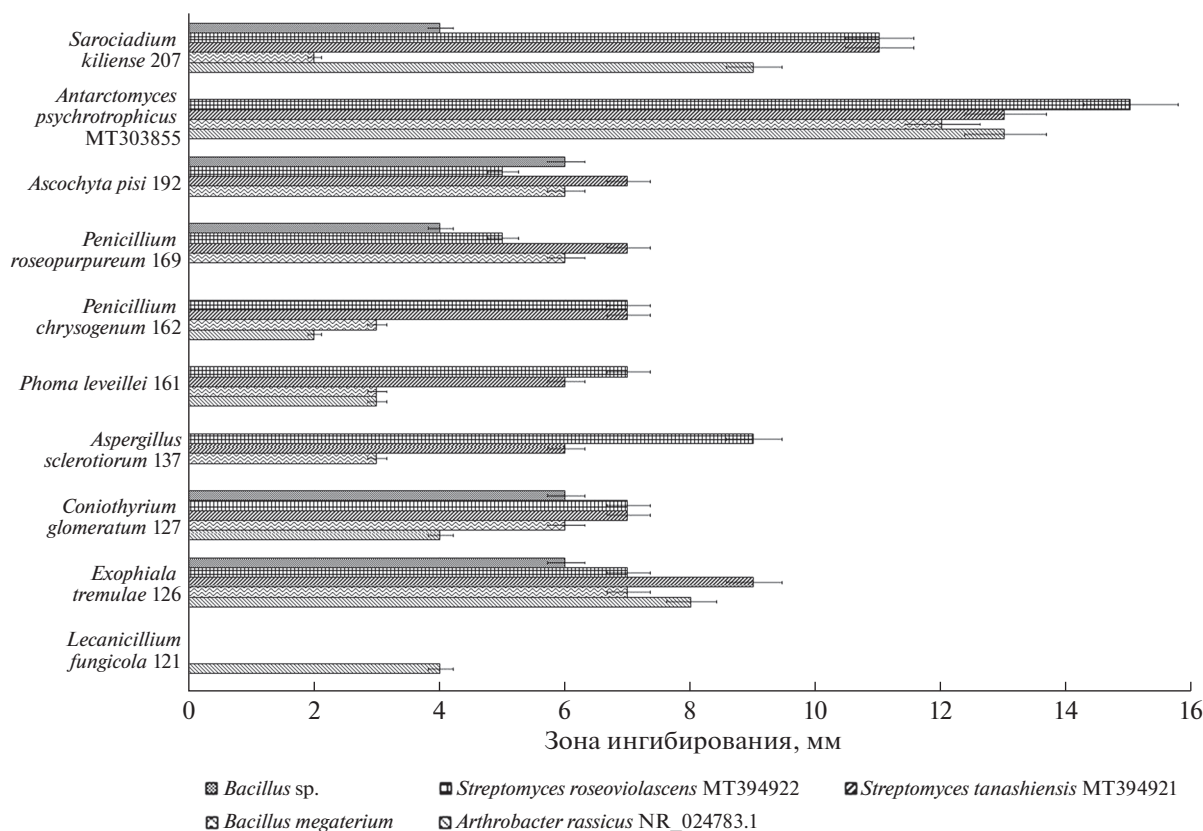


Рис. 2. Антагонистическая активность штаммов микромицетов по отношению к штаммам грамположительных бактерий, выявленная методом агаровых блоков.

иском продуцентов новых и эффективных антибиотиков (Gonçalves et al., 2015).

Четыре штамма микромицетов, выделенных нами из Антарктиды (*Arthrimum sphaerospermum* 136, *Eurotium niveoglaucum* 117, *Exophiala tremulae* 126 и *Periconia igniaria* 134), не ингибировали рост ни *Bacillus subtilis* ATCC 6633, ни *Aspergillus niger* INA 00760. Эти микромицеты, несмотря на многочисленные пересевы, выделялись исключительно в виде стерильных мицелиев, не формировали органов спороношения и не продуцировали антибиотических веществ. Такие факты согласуются с известным наблюдением, что синтезу антибиотиков у грибов, как правило, предшествует стадия интенсивного конидиогенеза (Kumar, Kumar, 2019). Так, аспорогенный мутантный штамм *Trichoderma harzianum* переставал синтезировать комплекс пептабиолов в сравнении с исходным “диким” изолятом с нормальным спороношением (Kubicek et al., 2007).

У 13 штаммов оценена антагонистическая активность в отношении штаммов бактерий, выделенных из почв Антарктиды (рис. 2). Выбранные штаммы грибов отобраны по следующему принципу: характерные для Антарктиды виды (Rosa et al., 2019) — *Antarctomyces psychrotrophicus* MT303855, *Exophiala tremulae* 126, *Phoma leveillei* 161; редкие для материка виды — *Eurotium niveo-*

glaucum 117, *Talaromyces flavus* 170; известные как фитопатогены — *Ascochyta pisi* 192, *Coniothyrium glomeratum* 127; известные как продуценты антибиотиков — *Aspergillus sclerotiorum* 137, *Lecanicillium fungicola* 121, *Paecilomyces marquandii* 166, *Penicillium chrysogenum* 162, *Penicillium roseopurpureum* 169, *Sarocladium kiliense* 207. Большинство (10 из 13, или 77%) протестированных изолятов проявили активность по отношению к бактериям из почв Антарктиды. Выявлено ингибирование роста только грамположительных бактерий и актиномицетов. Штаммы *Eurotium niveoglaucum* 117, *Paecilomyces marquandii* 166, *Talaromyces flavus* 170 не подавляли рост ни одного из антарктических штаммов бактерий. Интересно отметить, что тот же штамм *Paecilomyces marquandii* 166 подавлял развитие *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Все микромицеты проявили низкую или умеренную антагонистическую активность в отношении данных тест-культур. Максимальный антагонизм выявлен у штамма эвритопного вида *Sarocladium kiliense* 207 и доминантного вида многих субстратов Антарктиды — *Antarctomyces psychrotrophicus* MT303855. Эти штаммы выделены из биотопы богатой органикой с полноценным моховым покровом. Ранее проведено только одно исследование антибиотической активности для *A. psychrotrophicus*, но по отношению лишь к *Esch-*

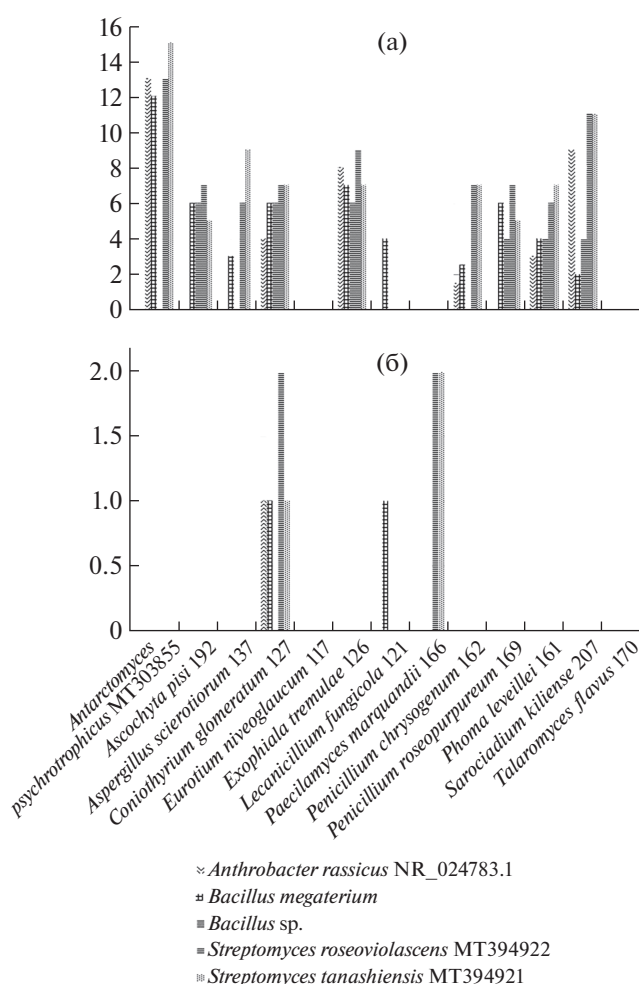


Рис. 3. Антимикробная активность исследованных штаммов грибов против антарктических штаммов бактерий: А — выявленная методом агаровых блоков; Б — активность органических экстрактов КЖ.

erichia coli (Abneuf et al., 2016). Активность большинства прочих штаммов оказалась невысокой. Штаммы редких для Антарктиды видов (Rosa et al., 2019) *Eurotium niveoglaucum* 117, *Paecilomyces marquandii* 166, *Talaromyces flavus* 170 были неактивны.

Штаммы микромицетов в большей степени подавляли рост актиномицетов, чем немичелиальных грамположительных бактерий. Так, *S. kiliense* 207 имел слабую антибиотическую активность к *Arthrobacter rassicus* (NR_024783.1) и *Bacillus megaterium*, но умеренный диаметр зоны ингибирования для *Streptomyces tanashiensis* MT394921 и *Streptomyces roseoviolascens* MT394922. Известно, что доля актинобактерий (в том числе и актиномицетов) в субстратах Антарктиды мала (Pearce et al., 2012), это, возможно, связано с их ингибированием грибами.

Некоторые тестируемые микромицеты не подавляли рост отдельных штаммов грамположительных бактерий, выделенных из субстратов Антарктиды. Например, *Antarctomyces psychrotrophicus* MT303855 и *Penicillium chrysogenum* 162 не останавливали развитие *Bacillus* sp.; *Ascochyta pisi* 192,

A. sclerotiorum 137, *Lecanicillium fungicola* 121 — *Arthrobacter rassicus* NR_024783.1 и *Bacillus* sp.; а *Penicillium roseopurpureum* 169 — *Arthrobacter rassicus* NR_024783.1.

Для 13 штаммов, показавших высокую активность по методу агаровых блоков в отношении антарктических бактерий (*Antarctomyces psychrotrophicus* MT303855, *Ascochyta pisi* 192, *Aspergillus sclerotiorum* 137, *Coniothyrium glomeratum* 127, *Eurotium niveoglaucum* 117, *Exophiala tremulae* 126, *Lecanicillium fungicola* 121, *Paecilomyces marquandii* 166, *Penicillium chrysogenum* 162, *P. roseopurpureum* 169, *Phoma leveillei* 161, *Sarocladium kiliense* 207, *Talaromyces flavus* 170), проведена проверка активности их КЖ при росте на жидкой среде и их органических экстрактов (рис. 3). Экстракты КЖ *Exophiala tremulae* 126 и *Lecanicillium fungicola* 121 не подавляли развитие грамположительных бактерий и актиномицетов. Органические экстракты остальных штаммов подавляли рост исключительно грамположительных бактерий, в том числе актинобактерий. Только экстракт *Eurotium niveoglaucum* 117 слабо ингибировал штамм грамотрицательной бактерии *Brevundimonas denitrificans* NR_133989.1.

Наибольший интерес в качестве потенциальных продуцентов антибиотических соединений вызывают типичные виды для почв Антарктиды. Среди них мы выбрали штаммы с номерами MT303855 и 218 видов *Antarctomyces psychrotrophicus* и *Hyphozyma variabilis*, соответственно.

Способность к синтезу антибиотиков у штаммов оценивали в дальнейшем на двух жидких средах: синтетической ЧА и полусинтетической, богатой ГПД. Штаммы проявили антибактериальную активность в отношении *Bacillus subtilis* ATCC 6633, однако не подавляли рост *A. niger* INA 00760. Для *Antarctomyces psychrotrophicus* MT303855 синтез антибиотиков был выше на среде ГПД, а для штамма 218 *Hyphozyma variabilis* — на минеральной среде ЧА. При этом антибиотический комплекс не извлекался органическими растворителями, а активность сохранялась в постэкстракционном остатке. Очевидно, *Antarctomyces psychrotrophicus* MT303855 и *Hyphozyma variabilis* 218 продуцируют, преимущественно, водорастворимые активные соединения. Эти типичные для полярных биотопов виды микромицетов обычно выделяют из аквальных или покрытых мхами биотопов Антарктиды (De Hoog et al., 2004; Gonçalves et al., 2012). В этих экосистемах из-за обилия водной фазы и легкодоступных органических веществ могут доминировать прокариоты, поэтому антарктическим стенотопным микромицетам приходится ингибировать их рост антибиотиками. Исследователи часто отмечают обнаружение штаммов микромицетов активных продуцентов антибиотиков в аквальных биотопах (Kümmerer, 2009). Возможно, гидрофильные антибиотические вещества эффективнее в водной среде, чем органорастворимые за счет способности с ней смешиваться.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выделенные полярные штаммы микромицетов синтезируют биологически активные соединения, которые могут использоваться ими в экстремальных климатических условиях при конкуренции за выживание с доминирующими таксонами бактерий (Bell et al., 2013). Эти биоактивные микромицеты могут представлять собой потенциальный источник молекул-прототипов лекарственных средств (Godinho et al., 2015). В данной работе установлено, что большинство полярных штаммов микромицетов проявляют антибактериальную активность (в том числе по отношению к антарктическим штаммам бактерий), в то время как противогрибковая активность встречается гораздо реже и менее выражена. Кроме того, впервые показана антибактериальная активность типичных для Антарктиды видов — *Antarctomyces psychrotrophicus* и *Hyphozyma variabilis*, — ранее не заявленных как продуцентов антибиотиков.

Для большинства исследованных полярных штаммов свойственна сниженная функциональная активность по сравнению с изолятами из умеренного климата, что проявляется в невысоких уровнях антагонизма по отношению к другим микроорганизмам, низких уровнях целлюлазной и эстеразной активности, отсутствии фенолосидазной лакказной и пероксидазной активности. Высокая антагонистическая и ферментативная активность среди полярных штаммов редка, может выявляться только у некоторых типичных для материка видов (например, *Hyphozyma variabilis*, *Thelebolus ellipsoideus*). По-видимому, для штаммов, выделенных из почв Арктики и Антарктиды, успешная конкуренция с другими микроорганизмами не имеет определяющего значения, им гораздо важнее собственный адаптационный потенциал. Такие культуры имели максимальный рост и способность к образованию половых структур (аском) и существенное повышение ферментативной целлюлазной активности именно при низкой (5°C) температуре.

Авторы выражают благодарность м.н.с. ФГБНУ НИИНА А.А. Барановой за помощь в получении органических экстрактов для исследований антимикробной активности микромицетов. Авторы особенно признательны в.н.с. и профессору МГУ имени М.В. Ломоносова д.б.н. О.Е. Марфениной за ценные комментарии и замечания по статье. Выделение чистых культур, а также идентификация по культурально-морфологическим и молекулярно-биологическим признакам выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00328. Оценка антимикробных свойств полярных штаммов микромицетов выполнена при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 18-74-10073.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abrashev R., Feller G., Kostadinova N. et al. Production, purification, and characterization of a novel cold-active superoxide dismutase from the Antarctic strain *Aspergillus glaucus* 363. *Fungal biology*. 2016. V. 120 (5). P. 679–689.
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.03.002>
- Al-Maqtari Q.A., Waleed A.-A., 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.
- Arenz B.E., Blanchette R.A. Distribution and abundance of soil fungi in Antarctica at sites on the Peninsula, Ross Sea Region and McMurdo Dry Valleys. *Soil Biology and Biochemistry*. 2011. V. 43 (2). P. 308–315.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.10.016>
- Bell T.H., Callender K.L., Whyte L.G. et al. Microbial competition in polar soils: a review of an understudied but potentially important control on productivity. *Biology*. 2013. V. 2 (2). P. 533–554.
<https://doi.org/10.3390/biology2020533>
- Bhange K., Chaturvedi V., Bhatt R. Simultaneous production of detergent stable keratinolytic protease, amylase and bio-surfactant by *Bacillus subtilis* PF1 using agro industrial waste. *Biotechnology reports*. 2016. V. 10. P. 94–104.
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.03.007>
- Brakhage A.A. Regulation of fungal secondary metabolism. *Nature Reviews Microbiology*. 2013. V. 11 (1). P. 21–32.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro2916>
- Bratchkova A., Ivanova V. Bioactive metabolites produced by microorganisms collected in Antarctica and the Arctic. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 2011. V. 25 (1). P. 1–7.
<https://doi.org/10.5504/BBEQ.2011.0116>
- Castro P., Mendoza L., Vásquez C. et al. Antifungal Activity against *Botrytis cinerea* of 2,6-Dimethoxy-4-(phenylimino) cyclohexa-2, 5-dienone Derivatives. *Molecules*. 2019. V. 24 (4). P. 706.
<https://doi.org/10.3390/molecules24040706>
- Corry J.E., Curtis G.D., Baird R.M. Handbook of culture media for food and water microbiology. Royal Society of Chemistry, 2011.
- Cowan D.A., Makhalanyane T.P., Dennis P.G. et al. Microbial ecology and biogeochemistry of continental Antarctic soils. *Frontiers in microbiology*. 2014. V. 5. P. 154.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.0015>
- De Hoog G.S., Gottlich E., Platás G., Genilloud O. et al. Evolution, taxonomy and ecology of the genus *Thelebolus* in Antarctica. *Stud. Mycol.* 2005. V. 51. P. 33–76.
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H. Compendium of soil fungi, 2nd taxonomically revised edition by W. Gams. IHW, Eching, 2007.
- Dzoyem et al. Cytotoxicity, antioxidant and antibacterial activity of four compounds produced by an endophytic fungus *Epicoccum nigrum* associated with *Entada abyssinica*. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2017. V. 27 (2). P. 251–253.
<https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.08.011>
- Egorov N.S. Antibiotics: A Scientific Approach. Moscow, 2004 (in Russ.).
- Fenice M., Barghini P., Selbmann L. et al. Combined effects of agitation and aeration on the chitinolytic enzymes production by the Antarctic fungus *Lecanicillium muscarium* CCFEE 5003. *Microbial cell factories*. 2012. V. 11 (1). P. 12.
<https://doi.org/10.1186/1475-2859-11-12>

- Gesheva V.* Production of antibiotics and enzymes by soil microorganisms from the windmill islands region, Wilkes Land, East Antarctica. *Polar Biol.* 2010. V. 33 (10). P. 1351–1357.
<https://doi.org/10.1007/s00300-010-0824-x>
- Giudice A.L., Fani R.* Antimicrobial Potential of Cold-Adapted Bacteria and Fungi from Polar Regions. In *Biotechnology of Extremophiles*: Springer International Publishing, 2016.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-13521-2_3
- Glushakova A.M., Kachalkin A.V., Chernov I.Y.* Specific features of the dynamics of epiphytic and soil yeast communities in the thickets of Indian balsam on mucky gley soil. *Eurasian Soil Science.* 2011. V. 44 (8). P. 886–892.
<https://doi.org/10.1134/S1064229311080059>
- Gonçalves V.N., Carvalho C.R., Johann S. et al.* Antibacterial, antifungal and antiprotozoal activities of fungal communities present in different substrates from Antarctica. *Polar Biology.* 2015. V. 38 (8). P. 1143–1152.
<https://doi.org/10.1007/s00300-015-1672-5>
- Gupta P., Sangwan N., Lal R. et al.* Bacterial diversity of Drass, cold desert in Western Himalaya, and its comparison with Antarctic and Arctic. *Arch. Microbiol.* 2015. V. 197 (6). P. 851–860.
<https://doi.org/10.1007/s00203-015-1121-4>
- Gupta R., Kumari A., Syal P. et al.* Molecular and functional diversity of yeast and fungal lipases: their role in biotechnology and cellular physiology. *Progress in Lipid Research.* 2015. V. 57. P. 40–54.
<https://doi.org/10.1016/j.plipres.2014.12.001>
- Hamdan A.* Psychrophiles: Ecological significance and potential industrial application. *South African Journal of Science.* 2018. V. 114 (5–6). P. 1–6.
<https://doi.org/10.17159/sajs.2018/20170254>
- Henríquez M., Vergara K., Norambuena J. et al.* Diversity of cultivable fungi associated with Antarctic marine sponges and screening for their antimicrobial, antitumoral and antioxidant potential. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2014. V. 30 (1). P. 65–76.
<https://doi.org/10.1007/s11274-013-1418-x>
- Johannes C., Majcherczyk A.* Laccase activity tests and laccase inhibitors. *J. Biotechnol.* 2000. V. 78 (2). P. 193–199.
[https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00208-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00208-X)
- Kawaguchi M., Nonaka K., Masuma R. et al.* New method for isolating antibiotic-producing fungi. *Journal of Antibiotics.* 2013. V. 66 (1). P. 17–21.
<https://doi.org/10.1038/ja.2012.79>
- Kirtsideli I.Yu., Vlasov D.Yu., Abakumov E.V. et al.* The diversity and enzymatic activity of micromycetes from underdeveloped soils of the Coastal Antarctic. *Mikologiya i fitopatologiya.* 2010. V. 44 (5). P. 387–397 (in Russ.).
- Krishnan A., Alias S.A., Wong C.M. et al.* Extracellular hydrolase enzyme production by soil fungi from King George Island, Antarctica. *Polar biology.* 2011. V. 34 (10). P. 1535–1542.
<https://doi.org/10.1007/s00300-011-1012-3>
- Kumar A., Kumar A.* Synthesis and regulation of fungal secondary metabolites. Springer, Singapore, 2019.
https://doi.org/10.1007/978-981-13-8844-6_2
- Kümmerer K.* Antibiotics in the aquatic environment — a review — part I. *Chemosphere.* 2009. V. 75. P. 417–434.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>
- Lasek R., Dziewit L., Ciok A. et al.* Genome content, metabolic pathways and biotechnological potential of the psychrophilic Arctic bacterium *Psychrobacter* sp. DAB_AL43B, a source and a host of novel *Psychrobacter*-specific vectors. *J. Biotechnol.* 2017. V. 263. P. 64–74.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.09.011>
- Machavariani N.G., Terekhova L.P.* Biologically active compounds formed by endophyte microorganisms. *Antibiotics and chemotherapy.* 2014. V. 59 (5–6). P. 26–33 (in Russ.).
- Maggi O., Tosi S., Angelova M., Lagostina E. et al.* Adaptation of fungi, including yeasts, to cold environments. *Plant Biosystems.* 2013. V. 147 (1). P. 247–258.
<https://doi.org/10.1080/11263504.2012.753135>
- Marfenina O.E., Nikitin D.A., Ivanova A.E.* The structure of mushroom biomass and the diversity of cultivated micromycetes in the soils of Antarctica (Progress and Russkaya stations). *Soil Science.* 2016. V. 8. P. 991–999. (in Russ.).
<https://doi.org/10.7868/S0032180X16080074>
- Margesin R., Collins T.* Microbial ecology of the cryosphere (glacial and permafrost habitats): current knowledge. *Applied microbiology and biotechnology.* 2019. V. 103 (4). P. 2537–2549.
<https://doi.org/10.1007/s00253-019-09631-3>
- Maxime S., Tytgat B., Verleyen E. et al.* Biogeography and macroevolution in the Arctic and Antarctic lacustrine microbiomes. Abstracts. 2017.
- Mergelov N.S., Dolgikh A.V., Zazovskaya E.P. et al.* Soils and soil-like bodies of oases and nunataks of East Antarctica. *Geography Issues.* 2016. V. 142. P. 593–628 (in Russ.).
- Nikitin D.A., Marfenina O.E., Maksimova I.A.* Using the succession approach in studying the species composition of microscopic fungi and the content of mushroom biomass in Antarctic soils. *Mikologiya i fitopatologiya.* 2017. T. 51 (4). P. 211–219.
- Nisa H., Kamili A.N., Nawchoo I.A. et al.* Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: a review. *Microbial Pathogenesis.* 2015. V. 82. P. 50–59.
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.04.001>
- Pearce D.A., Newsham K.K., Thorne M.A. et al.* Metagenomic analysis of a southern maritime Antarctic soil. *Frontiers in Microbiology.* 2012. V. 3. P. 403.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00403>
- Prakash O., Mahabare K., Yadav K.K. et al.* Fungi from Extreme Environments: A Potential Source of Laccases Group of Extremozymes. In: *Fungi in Extreme Environments: Ecological Role and Biotechnological Significance.* Springer, 2019.
- Pudasaini S., Wilson J., Ji M. et al.* Microbial Diversity of Browning Peninsula, Eastern Antarctica Revealed Using Molecular and Cultivation Methods. *Frontiers in microbiology.* 2017. V. 8. P. 591.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00591>
- Rosa L.H., Zani C.L., Cantrell C.L. et al.* Fungi in Antarctica: diversity, ecology, effects of climate change, and bioprospection for bioactive compounds. In *Fungi of Antarctica.* Springer, 2019.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-18367-7_1
- Sánchez L.A., Gómez F.F., Delgado O.D.* Cold-adapted microorganisms as a source of new antimicrobials. *Extremophiles.* 2008. V. 13. P. 111–120.
<https://doi.org/10.1007/s00792-008-0203-5>
- Schnürer J., Rosswall T.* Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and environmental microbiology.* 1982. V. 43 (6). P. 1256–1261.

- Silveira M.H.L., Aguiar R.S., Siika-aho M. et al.* Assessment of the enzymatic hydrolysis profile of cellulosic substrates based on reducing sugar release. *Bioresource Technology*. 2014. V. 151. P. 392–396. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.09.135>
- Singh J., Dubey A.K., Singh R.P.* Antarctic terrestrial ecosystem and role of pigments in enhanced UV-B radiations. *Reviews in Environmental Science and BioTechnology*. 2011. V. 10 (1). P. 63–77. <https://doi.org/10.1007/s11157-010-9226-3>
- Svahn K.S., Chryssanthou E., Olsen B. et al.* *Penicillium nalgiovense* Laxa isolated from Antarctica is a new source of the antifungal metabolite amphotericin B. *Fungal Biology and Biotechnology*. 2015. V. 2 (1). P. 1. <https://doi.org/10.1186/s40694-014-0011-x>
- Tomova I., Stoilova-Disheva M., Lazarkevich I. et al.* Antimicrobial activity and resistance to heavy metals and antibiotics of heterotrophic bacteria isolated from sediment and soil samples collected from two Antarctic islands. *Frontiers in Life Science*. 2015. V. 8 (4). P. 348–357. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1044130>
- Tosi S., Kostadinova N., Krumova E. et al.* Antioxidant enzyme activity of filamentous fungi isolated from Livingston Island, Maritime Antarctica. *Polar biology*. 2010. V. 33 (9). P. 1227–1237. <https://doi.org/10.1007/s00300-010-0812-1>
- Vaca I., Chávez R.* Bioactive compounds produced by Antarctic filamentous fungi. In *Fungi of Antarctica*. Springer, 2019.
- Vaz A.B., Rosa L.H., Vieira M.L. et al.* The diversity, extracellular enzymatic activities and photoprotective compounds of yeasts isolated in Antarctica. *Brazilian J. Microbiol.* 2011. V. 42 (3). P. 937–947. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000300012>
- Zhelezova A., Chernov T., Tkhakakhova A. et al.* Prokaryotic community shifts during soil formation on sands in the tundra zone. *PloS one*. 2019. V. 14 (4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206777>
- Егоров Н.С.* (Egorov) Основы учения об антибиотиках. М.: МГУ, 2004. С. 528. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206777>
- Кирицели И.Ю., Власов Д.Ю., Абакумов Е.В. и др.* (Kirtsideli et al.) Разнообразие и ферментативная активность микромикетов из слабобразвитых почв Береговой Антарктики // *Микология и фитопатология*. 2010. Т. 44. № 5. С. 387–397.
- Марфенина О.Е., Никитин Д.А., Иванова А.Е.* (Marfenina et al.) Структура грибной биомассы и разнообразие культивируемых микромикетов в почвах Антарктиды (станции Прогресс и Русская) // *Почвоведение*. 2016. Т. 8. С. 991–999. <https://doi.org/10.7868/S0032180X16080074>
- Мачавариани Н.Г., Терехова Л.П.* (Machavariani et al.) Биологически активные соединения, образуемые микроорганизмами-эндофитами // *Антибиотики и химиотерапия*. 2014. Т. 59. № 5–6. С. 5–6.
- Мергелов Н.С., Долгих А.В., Зазовская Э.П. и др.* (Mergelov et al.) Почвы и почвоподобные тела оазисов и нунатаков Восточной Антарктиды // *Вопросы географии*. 2016. Т. 142. С. 593–628.
- Никитин Д.А., Марфенина О.Е., Максимова И.А.* (Nikitin et al.) Использование сукцессионного подхода при изучении видового состава микроскопических грибов и содержания грибной биомассы в антарктических почвах // *Микология и фитопатология*. 2017. Т. 51. № 4. С. 211–219.

Enzymatic and Antimicrobial Activity of Polar Strains of Soil Microfungi

D. A. Nikitin^{a, #}, V. S. Sadykova^{b, d, ###}, A. E. Kuvarina^{b, ###}, A. G. Dah^{b, ####}, and M. V. Biryukov^{c, #####}

^a Soil Institute V.V. Dokuchaev, Moscow, Russia

^b G.F. Gause research institute for search of novel antibiotics, Moscow, Russia

^c M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

^d Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, 117997 Москва, Россия

[#] e-mail: dimnik90@mail.ru

^{##} e-mail: sadykova_09@mail.ru

^{###} e-mail: nastena.lysenko@mail.ru

^{####} e-mail: alex1_96@list.ru

^{#####} e-mail: metrim.mobile@gmail.com

The ability to produce secondary metabolites: inducible enzymes (some hydrolases and oxidases) and antibiotics for soil strains of micromycetes of the Arctic (Franz Josef Land, Novaya Zemlya) and Antarctica (oases of Tal Hill, Larsemann Hills, Schirmacher, Mary Bird Land) was evaluated. Maximum esterase activity was found in strains of typical Antarctic species *Hyphozyma variabilis* 218 and *Thelebolus ellipsoideus* 210 – 51 and 29 nmol PDA/g of mycelium per hour, respectively. The highest values of cellulolytic activity – 89 µmol glucose/mg biomass – were observed in *Ascochyta pisi* 192. No activity of extracellular phenoloxidases laccases and peroxidases was found among the tested strains. Antibacterial activity against *Bacillus subtilis* ATCC 6633 was detected in 75% of the studied Antarctic micromycetes strains. Highly active strains were isolated from organic and moisture-rich biotopes with moss/lichen cover. The most active were *Paecilomyces marquandii* 166, *Penicillium janczewskii* 165, *P. roseopurpureum* 169 and *Thelebolus ellipsoideus* 210. Antagonistic activity against Antarctic bacterial strains was shown by 77% of the tested fungal strains. The maximum inhibition was found in strains typical of Antarctica *Antarctomyces psychrotrophicus* MT303855, as well as the eurytopic *Sarocladium kiliense* MT303856. Antimycotic activity was manifested in 42% of the studied strains. In 38% of Antarctic strains, both types of activity were detected.

Keywords: Antarctica, antibiotic activity, Arctic, enzymatic activity, micromycetes, microorganisms

ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

УДК 632.4 : 633.1 (470 + 476)

ГИБРИДИЗАЦИЯ МЕЖДУ ФОРМАМИ *PYRENOPHORA TERES* В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ РОССИИ И РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

© 2021 г. Н. В. Мироненко^{1,*}, Н. М. Лашина^{1,**}, О. А. Баранова^{1,***},
А. А. Зубкович^{2,****}, О. С. Афанасенко^{1,*****}

¹ Всероссийский НИИ защиты растений, 196608 Санкт-Петербург, Россия

² Научно-практический центр НАН РБ по земледелию, 222160 Жодино, Республика Беларусь

*e-mail: nina2601mir@mail.ru

**e-mail: nlashina@mail.ru

***e-mail: baranova_oa@mail.ru

****e-mail: aa_zoubkovitch@mail.ru

*****e-mail: olga.s.afan@gmail.com

Поступила в редакцию 10.08.2020 г.

После доработки 05.10.2020 г.

Принята к публикации 19.11.2020 г.

Две формы фитопатогенного гриба *Pyrenophora teres* — *P. teres* f. *teres* (net-форма) и *P. teres* f. *maculata* (spot-форма) — вызывают различные симптомы болезни: сетчатую, либо округлую пятнистости листьев ячменя. Net-форма *P. teres* распространена повсеместно в ареале возделывания ячменя, тогда как spot-форма впервые выявлена нами в 2011 г. в Краснодарском крае РФ и в 2016 г. в Брестской обл. Республики Беларусь. Обе формы патогена легко скрещиваются в лабораторных условиях, но в природе гибриды либо не образуются, либо их трудно диагностировать. Тем не менее, вопрос об образовании и сохранении в природных популяциях гибридов между net и spot формами остается актуальным и имеет большое практическое значение, поскольку устойчивость ячменя к этим двум формам *P. teres* контролируется различными генами. Гибридные формы патогена могут иметь непредсказуемую вирулентность к используемым в селекции донорам устойчивости. Целью данного исследования был поиск гибридных форм между *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata* в природных популяциях России и Республики Беларусь с помощью новых формоспецифичных маркеров Ptt и Ptm. Материалом исследования служили 138 моноконидиальных изолятов из четырех популяций *P. teres* f. *maculata* и четырех популяций *P. teres* f. *teres*, собранных в 2013–2016 гг. с производственных посевов ячменя в Ленинградской обл. и Краснодарском крае России, а также в Брестской обл. Республики Беларусь. Все изоляты были генотипированы с помощью 10 формоспецифичных маркеров, при этом были выявлены изоляты, сочетающие маркеры обеих форм, которые условно были отнесены к гибридам между двумя формами *P. teres*. Предлагаются гипотезы, объясняющие существование таких гибридов в природных популяциях. Наиболее вероятной гипотезой, объясняющей обнаружение изолятов *P. teres*, сочетающих в своем геноме маркеры, специфичные для *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata*, является половая, либо соматическая гибридизация между двумя формами гриба при их совместном существовании на посевах ячменя. Не исключается также вероятность существования третьей, возможно, предковой промежуточной формы, сохранившейся в процессе дивергенции вида *P. teres*.

Ключевые слова: гибриды *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata*, популяции, формоспецифичные маркеры, ячмень, *Pyrenophora teres*, net-форма, spot-форма

DOI: 10.31857/S0026364821010074

ВВЕДЕНИЕ

Две формы возбудителя сетчатой пятнистости ячменя *Pyrenophora teres* — *P. teres* f. *teres* Drechs. (net-форма) и *P. teres* f. *maculata* Smed.-Pet. (spot-форма) вызывают различные симптомы болезни (сетчатая и округлая пятнистости) и, несмотря на сходство морфологических признаков конидий и аскоспор, существенно различаются по молекулярным маркерам, выявляемым с помощью мето-

дов генотипирования RAPD, AFLP и SSR в популяционных исследованиях (Bakonyi, Justesen, 2007; Keiper et al., 2007; Serenius et al., 2007).

Возбудитель сетчатой пятнистости ячменя — *P. teres* f. *teres* (net-форма) распространен повсеместно в ареале возделывания ячменя, в том числе и в России. Spot-форма впервые была описана Смедегардом-Петерсеном в 1977 г. (Smedegaard-Petersen, 1977). Позже наличие в популяциях *P. teres* формы *maculata* было подтверждено в За-

падной Европе (Arabi et al., 1992; McLean et al., 2009), Канаде (Tekauz, 1990), США (Bokelman et al., 1983). В Австралии эта форма проявления болезни ячменя является преобладающей (McLean et al., 2009). Spot-форма *P. teres* впервые была обнаружена нами в Краснодарском крае в 2011 г. на сортах ячменя, выращенного из семян, интродуцированных из Западной Европы (Anisimova et al., 2011). Наличие spot-формы возбудителя сетчатой пятнистости в посевах озимого ячменя в Краснодарском крае, было подтверждено нами при экспедиционных поездках в 2012, 2013 и 2016 гг. В Республике Беларусь (Брестская обл., Ивановский р-н) нами была выявлена spot-форма в посевах ярового и озимого ячменя также на интродуцированных из Западной Европы сортах (Mironenko et al., 2016; Afanasenko et al., 2017).

Известно о наличии половой стадии в цикле развития, как *P. teres* f. *teres*, так и *P. teres* f. *maculata*. В лабораторных условиях грибы обеих форм могут скрещиваться между собой с образованием аскоспорового потомства (Serenius et al., 2005), хотя при этом отмечается нарушение мейоза и выживаемости гибридных аскоспор (Mironenko, Afanasenko, 2011). Гибридные изоляты не отличаются от родительских изолятов по морфологическим признакам, но имеют рекомбинантные генотипы, что доказывается с помощью молекулярных маркеров. Считается, что в природе скрещивания между *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata*, если и происходят, то крайне редко (Akhavan et al., 2015; Lehmen-siek et al., 2010). Доказаны единичные случаи гибридной природы полевых изолятов методом кластерного анализа изолятов по признакам RAPD-или AFLP-маркеров. Изоляты, занимающие промежуточное положение между кластерами *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata*, и сочетающими в себе признаки, специфичные для каждой формы, считали рекомбинантными и, следовательно, гибридами (Campbell et al., 2002; Leisova et al., 2005; McLean et al., 2014).

Следует иметь в виду, что различные генетические факторы детерминируют устойчивость ячменя к этим двум формам возбудителя сетчатой пятнистости (Manninen et al., 2006). Вследствие этого гибридные формы патогена могут иметь непредсказуемую вирулентность к используемым в селекции донорам устойчивости.

С 2001 г. для молекулярной диагностики изолятов net- и spot-форм в основном использовали набор праймеров, разработанных на основе специфичных маркеров RAPD и дающих в ПЦР один продукт амплификации для каждой формы (Williams et al., 2001). В настоящее время разработаны праймеры на 6 локусов, специфичных для изолятов net- и spot-форм, с помощью которых, как считают авторы, легко идентифицируются гибридные изоляты (Poudel et al., 2017). Специфичные локусы были выбраны в результате анализа

полногеномных последовательностей австралийских изолятов гриба обеих форм. Специфичность локусов авторы оценивали на большой выборке изолятов, включая аскоспоровое потомство, полученное в лабораторных условиях при скрещивании изолятов *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata*.

Представляет интерес оценить изоляты *P. teres* из российских и белорусских популяций на наличие/отсутствие у них новых молекулярных маркеров, специфичных для spot- и net-форм гриба с целью определения возможности образования гибридных форм в природе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор и изоляция гриба. Материалом данного исследования служили моноконидиальные изоляты, выделенные из пятен с соответствующими симптомами, характерными для net- и spot-форм *P. teres*. Образцы четырех популяций *P. teres* f. *maculata* и четырех популяций *P. teres* f. *teres* были собраны нами в 2013–2016 гг. с производственных посевов ячменя в Ленинградской обл. России, а также в Брестской обл. Республики Беларусь (ранее они были охарактеризованы по вирулентности и типам спаривания (Mironenko et al., 2016)), а также из Краснодарского края России (ранее не изучались) (табл. 1).

Изоляцию гриба из пораженных листьев проводили по общепринятым методикам, с использованием модифицированной агаровой среды Чапека (ЧЛМ) следующего состава: KCl — 0.5 г; KH_2PO_4 — 0.5 г; MgSO_4 — 0.5 г; мочевины — 1.2 г; лактоза — 20 г; агар-агар — 20 г (на 1 л водопроводной воды). Моноспоровые изоляты были получены путем переноса отдельных конидий на свежую среду ЧЛМ.

Выделение ДНК и проведение ПЦР. ДНК изолятов грибов выделяли стандартным методом (Murray, Thompson, 1980). Идентификацию форм гриба *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata* проводили как по симптомам болезни, так и с помощью ПЦР со специфичными праймерами (Poudel et al., 2017) (табл. 1). Гибридные изоляты определяли по наличию двух типов молекулярных маркеров: 1) специфичных для *P. teres* f. *teres* и 2) специфичных для *P. teres* f. *maculata*.

Для амплификации использовали термоциклер C1000 (BIO-RAD). Условия ПЦР-анализа приведены в оригинальном источнике (Poudel et al., 2017), а праймеры, использованные в работе — в табл. 2. Разделение продуктов амплификации с данными праймерами проводили в 1.7%-м агарозном геле при напряжении 100 В в течение 2 ч в $0.5 \times \text{ТБЕ}$ буфере. Гели окрашивали бромистым этидием. В качестве маркеров молекулярных весов использовали GeneRuler 50 п.о. (Fermentas).

Таблица 1. Происхождение и характеристика изолятов *Pyrenophora teres*

Район, год сбора пораженных листьев	Сорт	Обозначение образцов популяции	Число изолятов	Форма <i>P. teres</i> по симптомам на листьях ячменя	Состав образцов популяций по результатам молекулярной диагностики (Poudel et al., 2017)
Россия					
ОПХ “Родина” Псковской обл., 2014	Суздалец (яровой)	Psk	10	Net	10 net
Батецкий район Новгородской обл., 2014	Таусень (яровой)	Nov	10	Net	10 net
Краснодарский край, 2016	неизвестен (озимый)	Kr2016	35	Spot	0 net + 3 spot + 32 Hybrid
Там же, ОПХ “Колос”, 2013	Escape (озимый)	Kr2013	28	Spot	1 net + 23 spot + 4 Hybrid
Республика Беларусь					
Ивановский р-н Брестской обл., 2014	Кормоган (яровой)	Iv1	10	Net	10 net
” ”	Thorgall (яровой)	Iv4	5	Net	5 Hybrid
Там же, ОАО “Бел-солод”, 2014	Kangoo (яровой)	Iv2	20	Spot	20 Hybrid
Там же, “Агро-Мотоль”, 2014	Isocel, Salaman-dra, Nectararia (озимые)	Iv3	20	Spot	8 spot + 12 Hybrid

Таблица 2. Праймеры для идентификации двух форм вида *Pyrenophora teres* – f. *teres* и f. *maculata* (по: Poudel et al., 2017)

Маркер	Нуклеотидная последовательность F и R праймеров (5' → 3')	Размер продукта (п. н.)
PttQ1	F: GGA TGA TGA CCT CGC CAG AT R: GCG ATG GTA TGT TCT GCG AA	70
PttQ2	F: AAC ACT CTG AAC GTG GTT GC R: TTC AGT TGT AAG CTG CGT GG	110
PttQ3	F: CCT CGT CCT AAG TTG ACT CGA R: TTA CAC GGG TTC CCT CCA TC	130
PttQ4	F: CGT CCC GCC GAA ATT TTG TA R: CAA GGA CTT ACG CGC TCA AA	150
PttQ5	F: GCA TTG TCT AGC ACT CGT CG R: CGC GGA CTC AGA AGA CAT TG	173
PtmQ7	F: GTA GAG GCT GTA GGA GAT GTG ATT R: CAT GGC AAA TTG TTC GTA ATC CTG	140
PtmQ9	F: AAT GCT CAA TTC TGG TGG CG R: TGT TCG AGT GCA AAC TTG GG	201
PtmQ10	F: TGC TGT GGA CTT AGA CGA GG R: TGG GGA TCC TTG ACC AAC TC	220
PtmQ11	F: GAT TAG ACC ATT ACC ACA CTA GCG R: ACC ACC ACA TCT TTC CTA CTA ACT	260
PtmQ12	F: CTA ACC AAA GAA CTT CAC AGA CGA R: CCT TAT TAG CCA ATT CCA TGT CGA	279

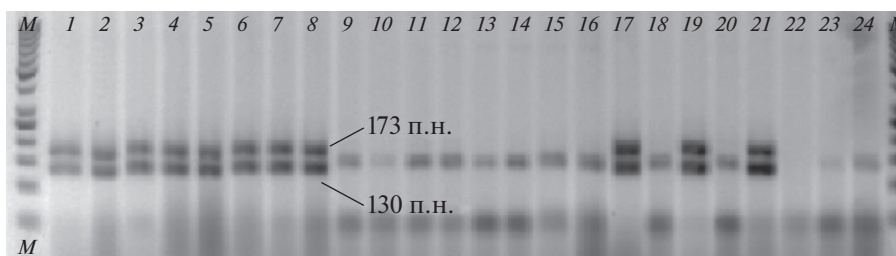


Рис. 1. Продукты амплификации в дуплексной ПЦР с праймерами, специфичными для Ptt-маркеров (PttQ3 + PttQ5). Изоляты *Pyrenophora teres*: 1–8 из популяции Nov; 9–24 — из популяции Kr2016. М — маркер молекулярных весов (50 п.н.). Диагностические продукты амплификации имеют размер 130 и 173 п.н.

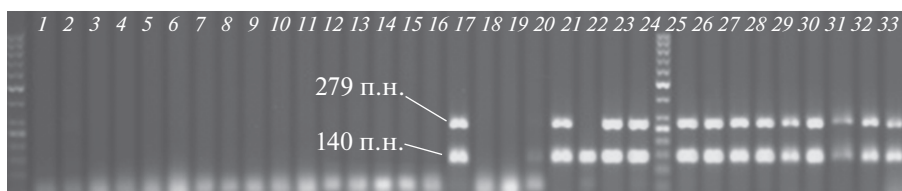


Рис. 2. Продукты амплификации в дуплексной ПЦР с праймерами, специфичными для Ptm-маркеров (PtmQ7 + PtmQ12). Изоляты *Pyrenophora teres*: 1–16 из популяций Iv1 (net) и Nov (net), 17–33 — изоляты из популяции Kr2013 (spot). Слева — маркер молекулярных весов (50 п.н.). Диагностические продукты амплификации имеют размер 140 и 279 п.н.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Молекулярная идентификация форм *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata*. Результаты молекулярной диагностики не полностью совпали с предварительной диагностикой формы изолятов по симптомам на листья ячменя (табл. 1). Примеры идентификации маркеров, специфичных для net- и spot-формы, согласно Poudel et al. (2017), приведены на рис. 1, 2.

Анализ краснодарской популяции *P. teres* 2013 и 2016 гг. С использованием формоспецифичных праймеров проведена молекулярная диагностика изолятов *P. teres*, выделенных с листьев ячменя с симптомами округлой пятнистости, собранных в Краснодарском крае в 2013 и 2016 гг. Один изолят из выборки Kr2013 г. был идентифицирован как *P. teres* f. *teres*, 23 изолята — как *P. teres* f. *maculata* и 4 изолята (Kr2013-29, -30, -32 и -46) одновременно показали диагностические продукты амплификации с праймерами Ptt и Ptm, специфичными для net- и spot-форм, что позволяет предполагать их гибридную природу (табл. 1, 3).

Из 35 моноконидиальных изолятов краснодарской популяции 2016 г. (Kr2016) у шести изолятов, отнесенных по симптомам к net-форме (Kr2016-6, -11, -15, -18, -24 и -28) получены продукты амплификации с четырьмя парами праймеров Ptt (PttQ2, PttQ3, PttQ4, PttQ5) и одновременно с тремя парами праймеров Ptm (PtmQ7, PtmQ9, PtmQ12) (табл. 1, 3). На этом основании их также можно отнести к гибридам между двумя формами.

Среди 29 изолятов, идентифицированных по симптомам как spot-форма, практически все, кроме трех изолятов (Kr2016-34, -37 и -44) дали продукты амплификации с праймерами Ptm (PtmQ7, PtmQ9, PtmQ11 и PtmQ12) и одновременно с одним, редко — двумя праймерами Ptt (табл. 3). На основании этих результатов можно сделать предположение, что исследуемые изоляты являются половыми или соматическими гибридами.

С праймерами для маркера PttQ4 (специфичного для net-формы) получены диагностические продукты амплификации для большинства изолятов исследуемой популяции spot-формы Kr2016.

Анализ белорусских популяций *P. teres*. С праймерами, специфичными для spot-формы (PtmQ7, PtmQ9, PtmQ10, PtmQ11 и PtmQ12), получены продукты амплификации с ДНК всех изолятов образцов популяций Iv2 и Iv3, на основании чего их можно отнести к spot-форме (табл. 1, 3). Десять изолятов из популяции Iv1 были идентифицированы как net-форма. У пяти изолятов из популяции Iv4, идентифицированных по симптомам как net-форма, получены продукты амплификации с праймерами для маркеров обеих форм — Ptt и Ptm. На этом основании эти изоляты были классифицированы как гибриды, также как изоляты net-формы из популяции Kr2016. Праймеры специфичные для *P. teres* f. *teres* (PttQ1, PttQ2, PttQ3 и PttQ5) не амплифицировали ДНК изолятов *P. teres* f. *maculata* популяций spot-формы Iv2 и Iv3 за редким исключением. Маркер PttQ4, который отличался специфичностью для австралийских изолятов *P. teres* f. *teres*, был выявлен у 80% белорусских

Таблица 3. Генотипирование изолятов *Pyrenophora teres* из разных популяций по локусам, специфичным для *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata*

Популяция <i>P. teres</i>	Наличие маркеров, специфичных для форм (по: Poudel et al., 2017)										Число изолятов	Диагностика формы изолятов
	Ptt					Ptm						
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q7	Q9	Q10	Q11	Q12		
Kr2013	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	20	spot
	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	2	гибрид
	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	гибрид
	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	2	spot
	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	spot
	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	гибрид
	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	net
Kr2016	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	10	гибрид
	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	6	гибрид
	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	12	гибрид
	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	гибрид
	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	2	гибрид
	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	3	гибрид
	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	гибрид
Iv2	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	20	гибрид
Iv3	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	гибрид
	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	10	гибрид
	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	7	spot
	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	гибрид
	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	spot
Iv4	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	4	гибрид
	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	гибрид
Psk + Nov + Iv1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	22	net
	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	net
	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	7	net

Примечание. Цифры 0 и 1 обозначают отсутствие и наличие продукта амплификации.

и 36% российских изолятов популяций spot-формы, что указывает на его неспецифичность в условиях России и Республики Беларусь.

Для доказательства гибридной природы изолятов, отобранных в результате генотипирования с формоспецифичными праймерами, мы проанализировали субклоны (митотическое потомство) предполагаемых трех гибридов из белорусской популяции Iv2 (Iv2-44, -32) и Iv4 (Iv4-47). К сожалению, гибридные изоляты отличались отсутствием способности к конидиальному спороношению. Все 16 субклонов, полученные из кончиков гиф, сохранили свой генотип по сравнению с родительским изолятом, что свидетельствует об их гибридной природе, либо стабильном гетерокариотическом состоянии.

Анализ популяций *Pyrenophora teres* f. *teres* Северо-западного региона России. Из популяций *P. teres* f. *teres* Psk и Nov 20 изолятов были проанализированы на наличие сайтов праймирования для маркеров Ptt и Ptm, специфичных для net- и spot-форм. В 100% случаев праймеры, специфичные для *P. teres* f. *maculata* (PtmQ7, PtmQ9, PtmQ10, PtmQ11, PtmQ12), не дали продуктов амплификации с ДНК изолятов *P. teres* f. *teres* из популяций Новгородской и Псковской областей России и Ивановской обл. Республики Беларусь (табл. 3). Среди изолятов *P. teres* f. *teres* выявлен полиморфизм по сайтам праймирования — в основном, по сайту PttQ1. Предполагаемых гибридов с диагностическими продуктами Ptt и Ptm не обнаружено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами было показано, что в российских и белорусских популяциях *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata* присутствуют изоляты с обоими типами спаривания, что свидетельствует о возможности половых скрещиваний между изолятами (Mironenko et al., 2016). В связи с возможностью существования гибридов между net- и spot-формами *P. teres* возникает проблема изменчивости признака вирулентности к донорам устойчивости ячменя и появления новых высокоагрессивных рас гриба, что создает дополнительные проблемы селекционерам.

Все известные случаи обнаружения в природе изолятов *P. teres*, имеющих признаки гибридов между изолятами net- и spot-форм (Campbell et al., 2002; Leišova et al., 2005; Akhavan et al., 2015; Poudel et al., 2017), нельзя считать строго доказанными. Принимая во внимание тот факт, что дивергенция вида происходит на фоне большого внутривидового разнообразия с образованием промежуточных форм между видами, следует признать, что существуют объективные причины, не позволяющие найти маркеры строго специфичные для вида или формы гриба. Современные подходы к разработке универсальных критериев для различения видов организмов и “подводные камни”, с которыми сталкиваются исследователи, детально рассмотрены в соответствующем обзоре (Abramson, 2009).

Наша работа посвящена поиску гибридных форм *P. teres*, но необходимым условием проведения такой работы является верификация формоспецифичных маркеров, разработанных на основании результатов секвенирования полных геномов австралийских изолятов (Poudel et al., 2017).

Специфичность предложенных праймеров была проверена и подтверждена авторами на коллекции австралийских изолятов, аскоспоровом потомстве от направленных скрещиваний между двумя формами (Poudel et al., 2017), а также на большом материале конидиальных и аскоспоровых изолятов, выделенных из листьев ячменя, зараженных смесью двух изолятов *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata* в полевых условиях в Австралии (Poudel et al., 2019). В результате проведения трехлетних полевых экспериментов гибридных форм выявлено не было (Poudel et al., 2019). Отметим, что все эти эксперименты проводились исключительно на изолятах австралийского происхождения и специфичность маркеров не вызывала сомнений.

Когда мы используем эти маркеры для идентификации форм *P. teres* в российских и белорусских популяциях, то некоторые из них (PttQ4, PttQ3) ведут себя как неспецифичные для наших объектов исследования. Вследствие этого наличие данных маркеров в изолятах spot-формы не являются

доказательством их гибридной природы. С другой стороны, выявление нескольких специфичных маркеров для обеих форм у отдельных изолятов *P. teres* позволяет утверждать их гибридную природу.

Мы использовали в работе набор из 10 пар праймеров, амплифицирующих 5 локусов специфичных для net-формы и 5 — для spot-формы. Моноконидиальные изоляты из российских и белорусских популяций *P. teres* были идентифицированы праймерами на локусы Ptm и Ptt практически на 100%. Отсутствие продукта амплификации в редких случаях можно отнести к проявлению полиморфизма по данному формоспецифичному локусу. В то же время, большая часть изолятов, идентифицированных как net- или spot-форма, характеризовалась наличием дополнительных маркеров, специфичных для другой формы (табл. 1, 3).

Так, маркер PttQ4 был идентифицирован у 36 и 80% изолятов *P. teres* f. *maculata* из российских и белорусских популяций, соответственно. Маркеры PttQ2 и PttQ5 встречались с меньшей частотой (1.8–3.6%) среди российских изолятов и отсутствовали у изолятов из белорусских популяций spot-формы, тогда как по маркеру PttQ3 различия между популяциями были существенны (23.2 и 0%, соответственно). Изоляты spot-формы, у которых выявлены маркеры, специфичные для net-формы, теоретически можно считать гибридами. Однако, учитывая высокую частоту в популяциях spot-формы изолятов, имеющих маркеры PttQ3 и PttQ4, логичнее предположить, что часть локусов, идентифицированных авторами как специфичные для net-формы, не являются таковыми для изолятов *P. teres* из российских и белорусских популяций. Возможно, эти маркеры дифференцируют австралийские изоляты *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata* по причине более глубокой дивергенции вида *P. teres* на формы в Австралии.

Все изоляты *P. teres* f. *teres* из популяций (Psk + Nov + Iv1), в которых не были обнаружены изоляты другой формы, дают диагностические продукты амплификации с праймерами, специфичными для net-формы, и не дают продуктов амплификации с праймерами, специфичными для spot-формы (табл. 3). Среди изолятов *P. teres* f. *teres* наблюдали полиморфизм по наличию/отсутствию продукта амплификации маркеров Ptt. Фактически мы показали, что предложенная авторами (Poudel et al., 2017) система праймеров способна идентифицировать net- и spot-формы *P. teres*. С другой стороны, все 11 изолятов *P. teres* f. *teres*, которые были выделены из смешанных популяций, т.е. представленных на 83–93% изолятами *P. teres* f. *maculata*, по результатам ПЦР имели локусы, специфичные для обеих форм, что может свидетельствовать об их гибридной природе. Логично предположить, что при совместном заражении растения двумя формами патогена может происходить

гибридизация, как в результате половых скрещиваний, так и путем образования гетерокарионов.

В целом, согласно полученным результатам, можно предполагать гибридную природу 11 изолятов, первоначально определенных как *P. teres* f. *teres*: шести изолятов из краснодарской популяции 2016 г. (Kr2016-6, -11, -15, -18, -24, -28) и пяти изолятов белорусской популяции (Iv4-7, -48, -49, -50, -51). Два изолята *P. teres* f. *maculata* из краснодарской популяции 2013 (Kr2013-30 и -46), совмещающих в своем геноме маркеры Ptm и 3-5 маркеров Ptt, также можно отнести к гибридам. Эти гибридные изоляты составляют около 9.4% от общего числа изолятов изученных нами популяций *P. teres* f. *maculata*.

Таким образом, наиболее вероятной гипотезой, объясняющей обнаружение изолятов *P. teres* f. *teres*, сочетающих в своем геноме маркеры Ptt и Ptm, является половая, либо соматическая гибридизация между двумя формами гриба при их совместном существовании на посевах ячменя. Не исключается также вероятность существования третьей, возможно, предковой, формы, сочетающей генетический материал *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata*. Остается открытым вопрос о реакции известных доноров устойчивости к *P. teres* f. *teres* к изолятам *P. teres* f. *maculata* и гибридным формам гриба.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведена верификация формоспецифичных маркеров (Poudel et al., 2017) для идентификации *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata* в российских и белорусских популяциях *P. teres* и поиска межвидовых гибридов. Природу гибридных изолятов *P. teres*, сочетающих в своем геноме маркеры специфичные для каждой формы гриба, можно объяснить: 1) половой, либо соматической гибридизацией между двумя формами гриба; 2) внутривидовой генетической изменчивостью; 3) сохранением в процессе дивергенции вида *P. teres* промежуточных форм.

Работа выполнена при поддержке РФФИ гранта № 20-516-00007 Бел_а и БРФФИ договор № Б20Р-131.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Akhavan A., Turkington T.K., Kebede B. et al. Prevalence of mating type idiomorphs in *Pyrenophora teres* f. *teres* and *P. teres* f. *maculata* populations from the Canadian prairies. Can. J. Plant. Pathol. 2015. V. 37. P. 52–60. <https://doi.org/10.1080/07060661.2014.995710>
- Arabi M.I., Barrault G., Sarrafi A. et al. Variation in the resistance of barley cultivars and in the pathogenicity of *Drechslera teres* f. sp. *maculata* and *D. teres* f. sp. *teres* isolates from France. Plant Pathol. 1992. V. 41. P. 180–186. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1992.tb02336.x>

- Bakonyi J., Justesen A.F. Genetic relationship of *Pyrenophora graminea*, *P. teres* f. *maculata* and *P. teres* f. *teres* assessed by RAPD analysis. J. Phytopathol. 2007. V. 155 (2). P. 76–83. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01192.x>
- Campbell G.F., Crous P.W. Genetic stability of net × spot hybrid progeny of the barley pathogen *Pyrenophora teres*. Australas. Plant Pathol. 2003. V. 32. P. 283–287. <https://doi.org/10.1071/AP03016>
- Keiper F.J., Capio E., Grcic M. et al. Development of sequence-tagged microsatellites for the barley net blotch pathogen *Pyrenophora teres*. Molecular Ecol. Notes. 2007. V. 7. P. 664–666. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01668.x>
- Lehmensiek A., Bester-van der Merwe A.E., Sutherland M.W. et al. Population structure of South African and Australian *Pyrenophora teres* isolates. Plant Pathol. 2010. V. 59. P. 504–515. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02231.x>
- Leisova L., Minarikova V., Kucera L. et al. Genetic diversity of *Pyrenophora teres* isolates as detected by AFLP Analysis. Journal of Phytopathology. 2005. V. 153 (10). P. 569–578. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2005.01019.x>
- Manninen O.M., Jalli M., Kalendar R. et al. Mapping of major spot-type and net-type net blotch resistance genes in the Ethiopian barley (*Hordeum vulgare*) line CI 9819. Genome. 2006. V. 49. P. 1564–1571. <https://doi.org/10.1139/g06-119>
- McLean M., Howlett B., Hollaway G. Epidemiology and control of spot form of net blotch (*Pyrenophora teres* f. *maculata*) of barley: A review. Crop Pasture Science. 2009. V. 60. P. 303–315. <https://doi.org/10.1071/CP08173>
- McLean M.S., Martin A., Gupta S. et al. Validation of a new spot form of net blotch differential set and evidence for hybridisation between the spot and net forms of net blotch in Australia. Australas. Plant Pathol. 2014. V. 43. P. 223–233. <https://doi.org/10.1007/s13313-014-0285-8>
- Murray H.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight DNA. Nucl. Acids Res. 1980. V. 8. P. 4321–4325. <https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>
- Poudel B., Ellwood S.R., Testa A.C. et al. Rare *Pyrenophora teres* hybridization events revealed by development of sequence-specific PCR markers. Phytopathology. 2017. V. 107 (7). P. 878–884. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-16-0396-R>
- Poudel B., McLean M.S., Platz G.J. et al. Investigating hybridisation between the forms of *Pyrenophora teres* based on Australian barley field experiments and cultural collections. Europ. J. Plant Pathol. 2019. V. 153. P. 465–473. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1574-9>
- Serenius M., Manninen O., Walwork H. et al. Genetic differentiation in *Pyrenophora teres* populations measured with AFLP markers. Mycol. Res. 2007. V. 111. P. 213–223. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.11.009>
- Serenius M., Mironenko N., Manninen O. Genetic variation, occurrence of mating types and different forms of *Pyrenophora teres* causing net blotch of barley in Fin-

- land. Mycol. Res. 2005. V. 109 (7). P. 809–817.
https://doi.org/10.1017/S0953756205002856
- Smedegaard-Petersen V. Inheritance of genetic factors for symptoms and pathogenicity in hybrid of *Pyrenophora teres* and *Pyrenophora graminea*. Phytopath. Z. 1977. V. 89. P. 193–202.
https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1977.tb02858.x
- Tekauz A. Characterization and distribution of pathogenic variation in *Pyrenophora teres* f. *teres* and *P. teres* f. *maculata* from Western Canada. Can. J. Plant Pathol. 1990. V. 12. P. 141–148.
https://doi.org/10.1080/07060669009501017
- Williams K.J., Smýl C., Lichon A. et al. Development and use of an assay based on the polymerase chain reaction that differentiates the pathogens causing spot form and net form of net blotch of barley. Austral. Plant Pathol. 2001. V. 30. P. 37–44.
https://doi.org/10.1071/AP00063
- Абрамсон Н.И. (Abramson) Молекулярные маркеры, филогеография и поиск критерия разграничения видов // А.Ф. Алимов, С.Д. Степаньянц (ред.). Вид и видообразование. Анализ новых взглядов и тенденций. Санкт-Петербург: Товарищество научных изданий КМК, 2009. С. 185–198.
- Анисимова А.В., МIRONENKO Н.В., Левитанов С.А. (Anisimova et al.) Первая находка гриба *Pyrenophora teres* f. *maculata* в Краснодарском крае // Вестник защиты растений. 2011. № 3. С. 53–56.
- Афанасенко О.С., МIRONENKO Н.В., Анисимова А.В. и др. (Afanasenko et al.) Изменение видового состава возбудителей листовых болезней ячменя в России и Беларуси // Современная микология в России. 2015. Т. 5. Вып. 4. С. 5–7.
- Калантаевская О.Т., Муругова Г.А. (Kalantaevskaya, Murgova) Исходный материал ярового ячменя, устойчивый к сетчатому гельминтоспориозу в условиях Приморского края // Вестник защиты растений. 2014. № 2. С. 64–67.
- МIRONENKO Н.В., Афанасенко О.С. (Mironenko, Afanasenko) Методические особенности генетического анализа признака вирулентности у *Pyrenophora teres* // Микология и фитопатология. 2011. Т. 45. № 1. С. 82–91.
- МIRONENKO Н.В., Анисимова А.В., Баранова О.А. и др. (Mironenko et al.) Внутривидовой состав и структура популяций *Pyrenophora teres* в Северо-Западном регионе России и Беларуси по вирулентности и локусам типа спаривания // Микология и фитопатология. 2016. Т. 50. № 3. С. 185–194.

Hybridization Between *Pyrenophora teres* Forms in Natural Populations of Russia and Republic of Belarus

N. V. Mironenko^{a, #}, N.M. Lashina^{a, ##}, O.A. Baranova^{a, ###}, A.A. Zubkovich^{b, ####}, and O.S. Afanasenko^{a, #####}

^a All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

^b Practical Centre of Agriculture of Belarus National Academy of Sciences, Zhodino, Belarus

[#] e-mail: nina2601mir@mail.ru

^{##} e-mail: nlashina@mail.ru

^{###} e-mail: baranova_oa@mail.ru

^{####} e-mail: aa_zoubkovitch@mail.ru

^{#####} e-mail: olga.s.afan@gmail.com

The two forms of the phytopathogenic ascomycete *Pyrenophora teres* — *P. teres* f. *teres* (net-form) and *P. teres* f. *maculata* (spot-form) — cause different symptoms of the disease: net blotch and spot blotch of barley leaves. Net-form of *P. teres* is widespread everywhere in the barley growing areas, while the spot-form was first found in the Krasnodar region of Russia (2011) and Brest Region of Republic of Belarus (2016). Both forms of the pathogen are easily crossed in laboratory conditions, but in the natural populations hybrids are either not formed or are difficult to diagnose. The problem of formation and preservation in natural populations of hybrids between net and spot forms remains relevant and of great practical importance, since the resistance of barley to these two forms of *P. teres* is controlled by different genes. Therefore, hybrid forms of the pathogen may have unpredictable virulence to the sources of resistance used in breeding. The aim of our study was to search for hybrid forms between *P. teres* f. *teres* and *P. teres* f. *maculata* in natural populations of Russia and Republic of Belarus using form-specific Ptt and Ptm markers developed for Australian isolates. The research material was 138 single conidial isolates from four populations of *P. teres* f. *maculata* and four *P. teres* f. *teres* collected in 2013–2016 from barley fields in the Leningrad and Krasnodar regions of Russia, as well as in Brest region of Republic of Belarus. It should be noted that in both Russian and Belarusian populations, along with the isolates identified as spot-form, which made up the majority in these populations, isolates identified as net-form, according to Williams et al. diagnostic, were less frequently encountered. These *P. teres* f. *teres* isolates were identified as hybrids using the Poudel et al. diagnostic system. At the same time, no hybrids were found among 30 isolates from three populations of net form in the Northwestern region of Russia and the Ivanovo region of Republic of Belarus. This is quite explainable by the absence of a spot form in these populations. Thus, the most probable hypothesis explaining the detection of *P. teres* f. *teres* isolates combining Ptt and Ptm markers in their genome is sexual or somatic hybridization between the two forms of the fungus when they exist together on barley leaves. The possibility of the existence of a third, ancestral, form that combines the genetic material of the studied forms is also not excluded.

Keywords: barley, form-specific markers, hybrids between *P. teres* f. *teres* and *P. teres* f. *maculata*, net-form, populations, *Pyrenophora teres*, spot-form

ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

УДК 633.11: 632. 484

ФУНГИСТАТИЧЕСКАЯ И ИНДУЦИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ БЕНЗОЙНЫХ КИСЛОТ В ПАТОСИСТЕМЕ “ПШЕНИЦА – *COCHLIOBOLUS SATIVUS*”

© 2021 г. Э. В. Попова^{1,*}, Н. М. Коваленко^{1,**}

¹ Всероссийский НИИ защиты растений, 196608 Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: elzavropova@mail.ru

**e-mail: nadyakov@mail.ru

Поступила в редакцию 13.04.2020 г.

После доработки 15.08.2020 г.

Принята к публикации 19.11.2020 г.

Проведено сравнительное изучение фунгистатической и индуцирующей болезнеустойчивости активностей салициловой (СК), бензойной (БК) и парагидроксibenзойной кислот (пГБК) в патосистеме “пшеница – *Cochliobolus sativus*”. Показано, что экзогенные СК и БК повышают устойчивость растений пшеницы к темно-бурой пятнистости и в концентрации 5 мМ демонстрируют наибольшую индуцирующую активность. Влияние пГБК на устойчивость пшеницы к этому заболеванию менее выражено. Установлено, что иммуномодулирующий эффект экзогенных фенольных соединений связан с их способностью ингибировать каталазу при инфицировании растений, что приводит к накоплению перекиси водорода, необходимой для обезвреживания фитопатогена в тканях и индуцирования защитных реакций клеток. При оценке фунгистатической активности СК, БК и пГБК выявлена прямая связь между концентрацией бензойных кислот и степенью ингибирования роста мицелия гриба *C. sativus*. Полное подавление роста патогена в течение семи суток культивирования наблюдалось при концентрации в среде СК и БК 10 мМ. Показано, что пГБК в отличие от СК и БК не обладает фунгистатическим эффектом в диапазоне концентраций от 1 до 10 мМ. С повышением концентрации до 60 мМ, пГБК сдерживает рост гриба на 85.7% на 7-е сутки культивирования. Полное ингибирование роста и развития мицелия *C. sativus* наблюдается при концентрации пГБК в среде 100 мМ, что в 10 раз превышает концентрацию СК и БК для получения такого же эффекта.

Ключевые слова: бензойная кислота, индуцированная болезнеустойчивость, пара-гидроксibenзойная кислота, пшеница, салициловая кислота, темно-бурая пятнистость, фунгистатическая активность, *Cochliobolus sativus*

DOI: 10.31857/S0026364821010104

ВВЕДЕНИЕ

Болезни сельскохозяйственных растений, вызываемые грибами, наносят существенный ущерб урожаю и приводят к большим экономическим потерям. Наиболее распространенной болезнью зерновых культур является темно-бурая пятнистость, возбудителем которой является *Cochliobolus sativus* (S. Ito et Kurib.) Drechsler ex Dastur (Terplyakov, 2003; Gulyaeva et al., 2016).

Один из путей борьбы с заболеваниями заключается в выявлении возможных механизмов индуцирования устойчивости растений к патогенам, приводящих к активации фитоиммунных реакций и к формированию у растений устойчивости к возбудителям болезней (Tyuterev, 2014). Системная приобретенная устойчивость (СПУ) считается наиболее агрономически значимым типом иммунитета растений (Henry et al., 2013) и может запускаться сигнальными молекулами.

Общепризнано, что салициловая кислота (СК) является одним из ключевых компонентов защитной сигнальной системы, участвующей в формировании СПУ (Wang, Li, 2006; Vasyukova, Ozretskovskaya, 2007; Chen et al., 2009; Vlot et al., 2009; Kumar, 2014; Janda, 2014). Маркерами развития этого процесса являются связанные с патогенозом PR-белки, а СК выступает в качестве сигнала в индукции их генов (Zhang et al., 2010; Tarchevsky et al., 2010).

Во время атаки патогенов СК быстро накапливается в клетках растений, индуцируя программируемую клеточную смерть вокруг пораженного участка или вызывая реакцию сверхчувствительности. Кроме того, СК также способствует формированию пролонгированной СПУ к широкому спектру последующих инфекций (Zurbriggen et al., 2010; Tarchevsky et al., 2010). Роль СК в регуляции защитных реакций во взаимодействиях растений и микробов описана в обзорах (Dempsey, Klessig, 2017; Klessig et al., 2018).

По литературным данным, кроме салициловой кислоты в механизме иммунитета возможно участие других близких по структуре кислот, которые являются естественными метаболитами фенольного обмена растений, образующимися в заключительных реакциях фенилпропаноидного пути (Senaratna et al., 2003; Catinot et al., 2008; Sircar, Mitra, 2009; Wang et al., 2011). Среди них можно выделить бензойную кислоту (БК), являющуюся предшественником салициловой кислоты, и парагидроксibenзойную кислоту (пГБК), представляющую собой структурный аналог СК.

Физиологическая активность БК и пГБК и их возможное участие в защитных реакциях растений мало изучены (Horvath et al., 2007). Есть сообщения о том, что экзогенная БК повышает устойчивость риса к гельминтоспориозу [возбудитель — *Bipolaris oryzae* Shoem. (= *Helminthosporium oryzae* Br. et Haan)], а также устойчивость растений какао к базидомицету *Ceratobasidium theobromae* (= *Oncobasidium theobromae*, *Thanatephorus theobromae*) (Shabana et al., 2008; Zakariyya et al., 2018). Индуцирующая способность пГБК практически не изучена. Есть свидетельства, что фенольные соединения растений обладают антимикробной активностью, и при определенных условиях могут выполнять защитную роль (Hayat, Ahmad, 2007; Volynets, 2013). Накопление фенольных веществ в местах локализации патогена может замедлять рост патогенного микроорганизма, действуя как антимикробное соединение или путем некроза клетки (Amborabé et al., 2002; Chong et al., 2012; Vio-Michaelis et al., 2012).

Имея в виду механизмы, лежащие в основе регуляции защитных реакций растений наиболее изученной салициловой кислотой, можно говорить о ее двойной роли в повышении устойчивости. По некоторым данным (Sorahinobar et al., 2015), обработка семян СК повышала устойчивость растений пшеницы к различным видам *Fusarium* не только благодаря развитию индуцированной устойчивости, но и в результате прямого действия СК на рост мицелия и прорастания конидий *Fusarium graminearum*, *F. pseudograminearum* и *F. oxysporum*. Нами ранее показано, что обработка экзогенной СК повышает устойчивость пшеницы к возбудителю темно-бурой пятнистости *Cochliobolus sativus* (Porova et al., 2017).

В настоящее время отсутствует информация о влиянии БК, СК и ее структурного аналога пГБК на рост мицелия *C. sativus*, а также об участии БК и пГБК в повышении устойчивости пшеницы к темно-бурой пятнистости. Цель настоящей работы состояла в оценке фунгистатической и индуцирующей болезнеустойчивости активности СК, БК и пГБК при формировании взаимоотношений между растением-хозяином (*Triticum aestivum* L.) и гемибийотрофом *Cochliobolus sativus*.

Актуальность изучения биологических свойств экзогенных производных бензойных кислот опре-

деляется необходимостью создания дополнительных возможностей для целенаправленного использования этих физиологически активных веществ в регуляции развития растений и их адаптации к биотическим стрессам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на восприимчивом к болезни сорте пшеницы Саратовская 29. В работе использовали изолят *C. sativus*, выделенный с листьев пшеницы сорта Галина, собранных в Ленинградской обл. в 2019 г. и числящихся в рабочей коллекции под номером Sat 19.

При подборе концентраций салициловой и бензойной (ЛенРеактив, Россия), а также п-гидроксibenзойной (Hebei G Biot Go, Китай) кислот для изучения их способности индуцировать устойчивость пшеницы к *C. sativus* была принята во внимание ранее установленная нами пороговая концентрация СК (8 мМ), выше которой проявляется ее фитотоксичность и происходит подавление ростовых процессов растений (Porova et al., 2017).

Для оценки индуцирующей способности исследуемых веществ 7-дневные проростки пшеницы сорта Саратовская 29 опрыскивали 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 мМ р-рами СК, БК, пГБК. Через 24 ч проводили заражение проростков суспензией спор *C. sativus* (4000 спор/мл).

Оценку иммуномодулирующей активности бензойных кислот проводили методом отделенных листьев (Mikhaylova et al., 2012). Эффективность исследуемых образцов оценивали при инокуляции *C. sativus* на 4-е сутки после заражения по интенсивности развития болезни (процент поражения площади листа). Контрольные растения обрабатывали водой.

Определение активности каталазы в листьях пшеницы проводили по методу А.Н. Баха и А.И. Опарина (Novikov, Tarazanova, 2012). Активность каталазы выражали в мккат в расчете на 1 г растительной массы согласно Международной системе единиц (СИ). Варианты включали растения без заражения и обработок (контроль); растения, обработанные 5 мМ растворами бензойных кислот и инфицированные *C. sativus* на 1, 2, 3 и 4-е сутки после заражения. Для определения активности фермента навеску из 10 листьев растирали в 0.05 М фосфатном буфере (рН 6.2) в соотношении 1: 5, экстрагировали 30 минут при 4°C, затем центрифугировали 10 мин при 8000 g на центрифуге Eppendorf 5415R (США).

Прямое фунгистатическое действие исследуемых кислот изучалось in vitro методом агаровых блоков (Bilau, 1982). В стерильные чашки Петри разливали охлажденную до 45°C агаризованную среду Чапека с добавлением в нее испытуемых веществ в соответствующей концентрации (0.5, 1, 2, 5, 7, 10, 20, 30, 60, 100 мМ). В качестве контроля служили чашки с агаризованной средой Чапека

без испытуемых веществ. После застывания среды на ее поверхность помещали диски мицелия диаметром 6 мм, вырезанные стерильным сверлом из 10-суточных мицелиальных газонов гриба *C. sativus*. Чашки инкубировали в темноте при 25°C. Измерение диаметров грибных колоний проводили на 3, 5 и 7-е сутки культивирования и оценивали фунгистатическое действие испытуемых веществ по формуле Эббота (Methodical recommendations, 1990): $P = \frac{D_k - \text{Доп}}{D_k} \times 100$, где P – подавление роста гриба по сравнению с контролем, %; D_k – диаметр колонии гриба в контроле, мм; Доп – диаметр колонии гриба в опыте, мм.

Все опыты проводили в 3-кратной повторности, полученные данные обрабатывали с использованием методов описательной статистики (на основе стандартных ошибок средних $\pm$ SEM, 95%-го доверительного интервала и t -критерия Стьюдента).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты оценки действия БК, СК и пГБК на устойчивость пшеницы к возбудителю темно-бурой пятнистости представлены в табл. 1. Выявлена зависимость иммуномодулирующего действия бензойных кислот на устойчивость пшеницы к *C. sativus* от их концентрации. Обработка растений СК в пределах концентраций 0.2–2.0 мМ, снижала развитие болезни на 15–20% (табл. 1). С увеличением концентрации до 5 мМ значительно повышается индуцирующая активность СК, что выражается в уменьшении пораженности листьев пшеницы микромицетом на 30% по сравнению с контролем. Полученные результаты согласуются с данными (Sari, Etebarian, 2009), которые выявили зависимость эффективности СК как индуктора устойчивости от концентрации на примере заражения пшеницы аскомицетом *Gaeumannomyces graminis*.

Иммуномодулирующая активность БК, близкая по эффективности к СК, проявилась в снижении поражения листьев растений на 10–25% по отношению к контролю. В пределах концентраций 0.2–5.0 мМ пГБК значительно уступала СК и БК по способности индуцировать болезнестойчивость. В растениях, обработанных этой кислотой, уменьшение развития болезни составило 5–10% по отношению к контролю.

В настоящее время ряд исследователей (Plotnikova et al., 2009; Maksimov et al., 2011; Yarullina et al., 2011) индуцирующий эффект экзогенной СК в повышении устойчивости пшеницы к бурой ржавчине и септориозу, картофеля к фитофторозу связывают с ее способностью ингибировать каталазу, детоксицирующую H_2O_2 , что и приводит к накоплению перекиси. Это вещество рассматривается как важный сигнальный посредник при индуцировании устойчивости растений к действию патогенов. Связь между концентрацией СК и количеством генерированной H_2O_2 изучали Rao

Таблица 1. Влияние экзогенных бензойных кислот на устойчивость пшеницы к темно-бурой пятнистости (возбудитель – *Cochliobolus sativus*)

Вариант	Концентрация кислот, мМ	Пораженность листьев, % НСР _{0.05} = 4.5
Контроль		80
СК	0.2	60
” ”	0.5	60
” ”	1.0	65
” ”	2.0	65
” ”	5.0	50
БК	0.2	60
” ”	0.5	65
” ”	1.0	70
” ”	2.0	60
” ”	5.0	55
пГБК	0.2	80
” ”	0.5	75
” ”	1.0	70
” ”	2.0	70
” ”	5.0	75

et al. (1997). Они показали, что в листьях *Arabidopsis thaliana*, обработанных 1 и 5 мМ СК, через 8 ч повысился уровень H_2O_2 на 59 и 194% соответственно по сравнению с контрольными листьями. При этом генерация H_2O_2 сопровождалась инактивацией каталазы – фермента, разлагающего перекись.

Участие СК в формировании иммунного статуса растений к настоящему времени связывают со следующими ее свойствами (Chen et al., 1993; Vlot et al., 2009). СК распознается клеточными рецепторами, что приводит к репрограммированию экспрессии генов и к синтезу защитных белков. Идентифицированы четыре SABP белка, которые связывают СК. Первым идентифицированным SABP белком была каталаза. Его деградирующая H_2O_2 активность специфически ингибируется СК или биологически активными аналогами СК. С использованием молекулярных моделей H_2O_2 , салициловой и янтарной кислот И.А. Тарчевский (Tarchevsky, 2002) установил, что близость расстояний между водородными атомами гидроксильных групп во всех трех типах молекул (у перекиси водорода – 2.62 А, салицилата – 2.56 А, у одной из возможных конформаций сукцината – 2.64 А) позволяет предположить, что эти кислоты могут связываться с активным центром каталазы, выступая в роли конкурентных ингибиторов в реакции разложения перекиси водорода.

В этой связи нами проведено изучение влияния бензойных кислот на активность каталазы в растениях пшеницы, инфицированных возбудителем

Таблица 2. Активность каталазы в листьях пшеницы, обработанных СК, БК и пГБК и инфицированных *Cochliobolus sativus* (в мккат в расчете на 1 г растительной массы)

Вариант	Активность каталазы в листьях пшеницы				
	сутки после заражения листьев пшеницы <i>C. sativus</i>				
	0	1	2	3	4
Контроль + заражение	26.5 ± 0.9	25.4 ± 0.5	24.8 ± 0.8	24.5 ± 0.4	25.0 ± 0.5
СК + заражение	24.6 ± 0.8	48.5 ± 0.8	38.2 ± 0.5	32.0 ± 0.4	28.4 ± 0.4
БК + заражение	24.3 ± 0.6	28.3 ± 0.5	30.0 ± 0.3	38.0 ± 0.5	36.2 ± 0.5
пГБК + заражение	25.0 ± 0.7	30.3 ± 0.5	31.2 ± 0.4	38.5 ± 0.5	36.0 ± 0.7
пГБК + заражение	23.8 ± 0.5	34.0 ± 0.6	33.0 ± 0.7	39.3 ± 0.8	38.5 ± 0.6

темно-бурой пятнистости (табл. 2). Полученные данные показали, что процесс заражения растений пшеницы возбудителем темно-бурой пятнистости сопровождался увеличением активности каталазы относительно контрольных незараженных растений на всем протяжении опыта. Резкий подъем активности каталазы в листьях пшеницы наблюдается на первые сутки после заражения патогеном. К моменту сильного развития болезни (4 сутки), когда вся ткань листа была некротизирована, активность фермента постепенно снижалась. Развитие болезни в этот период визуально проявлялось в виде коричневых пятен на листьях.

В обработанных 5 мМ растворами СК, БК и пГБК и инфицированных проростках пшеницы активность каталазы на первые сутки после заражения в 1.4–1.7 раза была ниже, чем в зараженных контрольных растениях. Причем ингибирующее действие СК и БК на активность каталазы было выше, чем пГБК.

Как известно, начальный этап инфицирования растений сопровождается активацией системы генерации АФК, которые вызывают окислительный стресс и гибель клеток (Grant, Loake, 2000; Vlot et al., 2009; Zurbriggen et al., 2010; Yarullina et al., 2011). Уменьшение каталазной активности в клетках растений на первой стадии патогенеза – необходимое условие сохранения высокого количества H_2O_2 , требующегося для обезвреживания фитопатогена в тканях и формирования устойчивости (Hung et al., 2006; Vlot et al., 2009; Yarullina et al., 2011).

Таким образом, снижение каталазной активности в обработанных бензойными кислотами растениях ведет к повышению количества H_2O_2 , необходимого для обезвреживания фитопатогена в тканях, включая непосредственное уничтожение вторгающегося патогена и/или активацию сшивания и лигнификации клеточной стенки, что укрепляет клеточную стенку и помогает сдерживать его распространение. При этом также происходит включение защитных реакций, ведущих к развитию индуцированной устойчивости в растениях пшеницы к темно-бурой пятнистости, что проявляется в снижении развития болезни на 25–30% по отношению к контролю при обработке СК

и БК. пГБК показала небольшую индуцирующую активность, что подтверждается снижением пораженности листьев пшеницы *C. sativus* всего на 5% (табл. 1).

Возможно, что наблюдаемый небольшой индуцирующий эффект пГБК связан с ее меньшим ингибирующим влиянием на активность каталазы, что ведет к появлению меньшего количества пероксида, который является важным сигнальным посредником при формировании устойчивости растений.

Результаты оценки *in vitro* влияния СК, БК и пГБК на линейный рост возбудителя темно-бурой пятнистости пшеницы *C. sativus* представлены в табл. 3. Установлена прямая зависимость фунгистатической активности от концентрации кислот в питательной среде. В низких концентрациях (0.5–2 мМ) СК не оказывает влияния на линейный рост мицелия гриба. С повышением концентрации в питательной среде до 5 мМ СК ингибирует рост мицелия патогена на –21.4–27.3% на 5 и 7-е сутки культивирования. Только при концентрации 10 мМ салициловая кислота полностью подавляет линейный рост мицелия *C. sativus* (табл. 3).

В диапазоне концентраций 0.5–5 мМ БК практически не обладает активностью (табл. 3). Прямой фунгистатический эффект для БК был получен лишь при концентрации 10 мМ в среде, когда в течение семи суток культивирования полностью подавлялся рост мицелия гриба. пГБК, в отличие от СК и БК, даже при вдвое повышенной концентрации (20 мМ) не оказывает существенного влияния на рост мицелия патогена. Лишь с повышением концентрации до 60 мМ в среде пГБК сдерживала рост гриба на 85.7% на 7-е сутки его культивирования. Полное подавление развития мицелия *C. sativus* наблюдалось при концентрации пГБК в среде при 100 мМ.

Полученные результаты по фунгистатической активности СК по отношению к аскомицету *C. sativus* согласуются с литературными данными, свидетельствующими об ингибирующем воздействии СК на линейный рост различных патогенов. Например, о значительном влиянии СК при концентрациях 2–8 мМ на мицелиальный рост *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina*

Таблица 3. Влияние СК, БК и пГБК на линейный рост мицелия *Cochliobolus sativus*

Вариант	Концентрация, мМ	Ингибирование линейного роста мицелия в процессе культивирования, %					
		3-и сутки		5-е сутки		7-е сутки	
		Д, мм	%	Д, мм	%	Д, мм	%
Контроль		23.0 ± 0.3		55.0 ± 2.3		70.0 ± 3.5	
СК	0.5	23.0 ± 0.2	0	56.0 ± 2.5	+1.8	70.0 ± 2.0	0
	1	23.5 ± 0.25	+3.2	56.5 ± 2.8	+2.8	70.0 ± 2.5	0
	2	23.0 ± 0.2	0	52.0 ± 2.3	5.4	65.0 ± 2.0	7.1
	5	22.0 ± 0.3	4.3	40.0 ± 2.5	27.3	55.0 ± 2.0	21.4
	7	20.0 ± 0.3	13.0	35.0 ± 2.5	36.4	28 ± 2.5	60.0
	10		100		100		100
БК	0.5	23.0 ± 0.15	0	55.0 ± 2.0	0	70.0 ± 2.5	0
	1	22.5 ± 0.2	2.2	52.0 ± 2.5	4.5	65 ± 2.0	7.1
	2	22.0 ± 0.2	4.3	52.0 ± 2.5	5.4	65.0 ± 2.0	7.1
	5	21.0 ± 0.3	8.7	50.0 ± 2.0	9.1	60.0 ± 1.5	14.3
	7	18.5 ± 0.2	19.6	35.0 ± 1.5	36.4	42.0 ± 2.0	40.0
	10		100		100		100
пГБК	0.5	23.0 ± 0.3	0	55.0 ± 2.3	0	70.0 ± 2.5	0
	1	22.5 ± 0.25	2.1	55.0 ± 2.5	0	70.0 ± 2.5	0
	2	20.0 ± 0.2	13.0	54.0 ± 3.0	1.8	70.0 ± 2.5	0
	5	23.0 ± 0.3	0	55.0 ± 2.0	0	65.0 ± 2.0	7.1
	7	20.0 ± 0.25	13.0	50.0 ± 1.5	9.0	63.5 ± 2.0	9.3
	10	21.0 ± 0.2	8.7	52.5 ± 2.0	4.5	65.0 ± 2.0	7.1
	20	15.0 ± 2.0	34.8	30.0 ± 1.5	45.9	37.5 ± 0.4	46.4
	30	15.0 ± 0.15	34.8	25.0 ± 1.0	54.5	22.5 ± 0.5	68.6
	60	11.0 ± 0.1	52.5	10.0 ± 0.5	81.8	10.0 ± 0.5	85.7
	100		100		100	9.0 ± 0.2	87.1

phaseolina, выделенных из корней огурца на 7-е сутки культивирования (Elwakil et al., 2015). Салициловая кислота является эффективным ингибитором линейного роста *Botrytis fabae* in vitro (Alde-suquy et al., 2015), *B. cinerea* (Dieryckx, et al., 2015) и *Fusarium oxysporum* (Sorahinobar et al., 2015). В концентрации 10 мМ СК полностью подавляет линейный рост *Rhizoctonia solani* и *Macrophomina phaseolina* — возбудителей, вызывающих болезни растений подсолнечника (Abd El-Hai et al., 2009). По данным Qi (2012) СК в концентрации 3–20 мМ оказывает ингибирующее действие на рост мицелия *Fusarium graminearum*.

Эффективность фунгистатического действия БК на линейный рост мицелия *Cochliobolus sativus* была аналогична СК. Полное подавление роста мицелия гриба происходило при концентрации БК в среде 10 мМ, как и для СК. Полученные результаты согласуются с данными Shabana et al. (2008) и Shukla, Dwivedi (2013), которые продемонстрировали эффективное ингибирующее действие бензойной и салициловой кислот на рост *Bipolaris oryzae*, *F. oxysporum* и *Botrytis cinerea* при 9 мМ.

В опыте с пГБК полное подавление развития мицелия *Cochliobolus sativus* наблюдалось лишь при концентрации 100 мМ, что в 10 раз превышает концентрацию СК и БК для получения такого же эффекта.

Большое количество исследований свидетельствует о том, что фенольные соединения растений являются потенциально токсичными веществами для фитопатогенных грибов и обладают противогрибковой, антибактериальной и противовирусной активностью, а при определенных условиях могут выполнять защитную роль (Наyat, Ahmad, 2007; Volynets, 2013). Тем не менее, механизмы антимикробного действия фенольных соединений остаются на сегодняшний день не достаточно изученными. Согласно литературным данным предполагается несколько механизмов, которые потенциально могут напрямую препятствовать росту грибов. Так, по данным Dieryckx et al. (2015) ингибирование роста *Botrytis* под действием СК и ее производных происходит в результате нарушения митохондриального дыхания, целостности клеточной стенки гриба, а также увеличения накопления АФК, токсичного для роста и развития гри-

ба. В результате изучения влияния СК на рост мицелия *Eutypa lata* было установлено, что СК ведет себя как разобщающий агент, приводя к нарушению трансмембранного градиента pH через плазмалемму и органеллы мембран, и напрямую влияет на дыхание клеток. Специфическое связывание СК с белком, представляющим собой каталазу, уменьшает активность фермента, способствуя накоплению H_2O_2 , который токсичен для многих функций клеток гриба (Amorabé et al., 2002).

Эти данные позволяют предположить, что при ингибировании роста мицелия гриба *C. sativus* изученные бензойные кислоты могут быть вовлечены во все указанные выше механизмы.

Как показали наши исследования, для обеспечения фунгистатического эффекта в среде должны быть достаточно высокие концентрации бензойных кислот. Так, СК и БК полностью подавляет рост гриба при концентрации 10 мМ в среде, а пГБК — при 100 мМ.

На основании вышеизложенного можно предположить, что салициловая и бензойная кислоты повышают устойчивость растений пшеницы к *C. sativus* не только как индукторы устойчивости, но и могут оказывать прямое действие на рост мицелия гриба.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе дана сравнительная оценка фунгистатической активности СК, БК и пГБК, а также их способности индуцировать устойчивость к возбудителю в патосистеме «пшеница — *C. sativus*». Показано, что экзогенные салициловая и бензойная кислоты в диапазоне концентраций 0.2–5.0 мМ повышают устойчивость растений пшеницы к возбудителю темно-бурой пятнистости и их индуцирующая эффективность коррелирует с концентрацией. Наибольшую иммуномодулирующую активность СК и БК демонстрируют при концентрации 5 мМ. В диапазоне изученных концентраций 0.2–5.0 мМ пГБК как индуктор устойчивости менее эффективна.

Продemonстрирован эффект экзогенных СК, БК и пГБК в повышении устойчивости растений пшеницы к *C. sativus*, обусловленный их способностью ингибировать каталазу при инфицировании растений. Этот процесс приводит к накоплению пероксида, требующегося для обезвреживания фитопатогена в тканях, а также для индуцирования защитных реакций клеток.

Выявлена прямая связь между концентрацией бензойных кислот и степенью ингибирования роста мицелия гриба *C. sativus*. СК, БК в концентрации 0.5–7.0 мМ практически не влияют на рост мицелия в течение семи суток культивирования. Увеличение концентрации веществ до 10 мМ ведет к 100%-му подавлению линейного роста мицелия гриба *C. sativus*. В отличие от СК и БК пГБК не обладает фунгистатическими свойствами вплоть

до концентрации 10 мМ. Полное ингибирование роста и развития мицелия патогена наблюдалось при концентрации пГБК в среде 100 мМ, что в 10 раз превышает концентрацию СК и БК для получения такого же эффекта. Проведенные исследования показали, что в дополнение к своей роли в качестве индукторов болезнестойчивости экзогенные СК и БК могут препятствовать колонизации тканей растений *C. sativus*, проявляя фунгистатическую активность.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abd El-Hai K.M., El-Metwally M.A., El-Baz S.M. et al. The use of antioxidants and microelements for controlling damping-off caused by *Rhizoctonia solani* and charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina* on sun flower. Plant Pathol J. 2009. V. 8. P. 79–89.
<https://doi.org/10.3923/ppj.2009.79.89>
- Aldequay H., Baka Z., Alazab N. Shikimic and salicylic acids induced resistance in Faba Bean plants against Chocolate Spot Disease. J. Plant Pathol. Microb. 2015. V. 6. (257). P. 2–8.
<https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000257>
- Amorabé B.E., Fleurat-Lessard P., Chollet J.F. et al. Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypa lata*: structure-activity relationship. Plant Physiol. Biochem. 2002. V. 40. P. 1051–1060.
- Bilay V.I. Methods of experimental mycology. Naukova Dumka, Kiev, 1982 (in Russ.).
- Catinot J., Buchala A., Abou-Mansour E. et al. Salicylic acid production in response to biotic and abiotic stress depends on isochorismate in *Nicotiana benthamiana*. FEBS Lett. 2008. V. 582. P. 473–478.
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.12.039>
- Chen Z., Silva H., Klessig D.F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. Science. 1993. V. 262. P. 1883–1886.
<https://doi.org/10.1126/science.8266079>
- Chen Z., Zheng Z., Huang J. et al. Biosynthesis of salicylic acid in plants. Plant Signal. Behav. 2009. V. 4. P. 493–496.
<https://doi.org/10.4161/psb.4.6.8392>
- Chong K., Markus A., Rossall S. The susceptibility of different varieties of oil palm seedlings to *Ganoderma boninense* infection. Pak. J. Bot. 2012. V. 44. P. 2001–2004.
- Dempsey D.M.A., Klessig D.F. How does the multifaceted plant hormone salicylic acid combat disease in plants and are similar mechanisms utilized in humans? BMC Biol. 2017. V. 15. (1). P. 15–23.
<https://doi.org/10.1186/s12915-017-0364-8>
- Dieryckx C., Gaudin V., Dupuy J. et al. Beyond plant defense: insights on the potential of salicylic and methylsalicylic acid to contain growth of the phytopathogen *Botrytis cinerea* Front Plant Sci. 2015. V. 6. P. 859.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00859>
- Elwakil M.A., El-Metwally M.A., Elsherbiny A. et al. Enhancing systemic acquired resistance in cucumber to control root rot and wilt diseases with rReference to yield and quality. Plant Pathology J. 2015. V. 14 (4). P. 223–233.
<https://doi.org/10.3923/PPJ.2015.223.233>
- Grant J.J., Loake G.J. Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. Plant Physiol. 2000. V. 124 (1) P. 21–29.
<https://doi.org/10.1104/pp.124.1.21>

- Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Shipilova N.P. et al. Phytosanitary monitoring of wheat diseases in the North-west region in 2015. Plant protection and quarantine. 2016. V. 4. P. 29–31 (in Russ.).
- Hayat S., Ahmad A. Salicylic acid: a plant hormone. Springer, Dordrecht, 2007.
- Henry E., Yadeta K.A., Coaker G. Recognition of bacterial plant pathogens: Local, systemic and transgenerational immunity. New Phytol. 2013. V. 199. P. 808–815.
- Horvath E., Pal M., Szalai G. et al. Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. Biol. Plant. 2007. V. 51. P. 480–487.
<https://doi.org/10.1007/s10535-007-0101-1>
- Hung K.T., Hsu Y.T., Kao C.H. Hydrogen peroxide is involved in methyl jasmonate-induced senescence of rice leaves. Physiol. Plant. 2006. V. 127 (2). P. 293–303.
<https://doi.org/10.1399-3054.2006.00662.x>
<https://doi.org/10.1111/j>
- Janda T., Gondor O.K., Yordanova R. et al. Salicylic acid and photosynthesis: signaling and effects. Acta Physiol. Plant. 2014. V. 36 (10). P. 2537–2546.
- Klessig D.F., Choi H.W., Dempsey D.M.A. Systemic acquired resistance and salicylic acid: past, present, and future. Mol. Plant-Microbe Interact. 2018. V. 31. P. 871–888.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-03-18-0067-CR>
- Kumar D. Salicylic acid signaling in disease resistance. Plant Sci. 2014. V. 228. P. 127–124.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.04.014>
- Maksimov I.V., Sorokan I.V., Cherepanova E.A. et al. The effect of salicylic and jasmonic acids on the components of the pro / antioxidant system in potato plants during late blight. Plant Physiol. 2011. V. 58 (2). P. 243–251.
- Methodical recommendations for testing chemicals for fungicidal activity. Cherkasy, 1990 (in Russ.).
- Mikhaylova L.A., Mironenko N.V., Kovalenko N.M. Laboratory methods of cultivation of wheat tan spot causal agent *Pyrenophora tritici-repentis* in wheat. SPb., 2012 (in Russ.).
- Novikov N.N., Tarazanova T.V. Laboratory workshop on plant biochemistry: textbook. Publishing house of the Russian State Agricultural University, Moscow, 2012 (in Russ.).
- Plotnikova L.Ya., Shtubei T.Yu. Effect of salicylic and succinic acids on the cytophysiological reactions of wheat infected with brown rust. Cytology. 2009. V. 51 (1). P. 43–53.
- Popova E.V., Domnina N.S., Kovalenko N.M. et al. The effect of salicylic acid and vanillin on wheat resistance to *Cochliobolus sativus*. Mikologiya i fitopatologiya. 2017. V. 51 (3). P. 178–182 (in Russ.).
- Qi P.F. Effect of salicylic acid on *Fusarium graminearum*, the major causal agent of fusarium head blight in wheat. Fungal Biol. 2012. V. 6. P. 413–426.
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2012.01.001>
- Rao M.V., Paliyath G., Ormrod D.P. et al. Influence of salicylic acid on H₂O₂ production, oxidative stress, and H₂O-metabolizing enzymes' salicylic acid-mediated oxidative damage requires H₂O₂. Plant Physiol. 1997. V. 115. P. 137–149.
<https://doi.org/10.1104/pp.115.1.137>
- Sari E., Etebarian H.R. Concentration-dependent effect of salicylic acid application on wheat seedling resistance to take-all fungus *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Phytoparasitica. 2009. V. 37 (1). P. 67–76.
- Senaratna T., Merritt D., Dixon K. et al. Benzoic acid may act as the functional group in salicylic acid and derivatives in the induction of multiple stress tolerance in plants. Plant Growth Regul. 2003. V. 39. P. 77–81.
<https://doi.org/10.1023/A:1021865029762>
- Shabana Y.M., Abdel-Fattah G.M., Ismail A.E. et al. Control of brown spot pathogen of rice (*Bipolaris oryzae*) using some phenolic antioxidants. Braz. J. Microbiol. 2008. V. 39. P. 438–444.
<https://doi.org/10.1590/S1517-83822008000300006>
- Shukla A., Dwivedi S.K. Antifungal approach of phenolic compounds against *Fusarium durum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. African J. Agric. Res. 2013. V. 8 (7). P. 596–600.
<https://doi.org/10.5897/AJAR11.2318>
- Sircar D., Mitra A. Accumulation of *p*-hydroxybenzoic acid in hairy roots of *Daucus carota*: Confirming biosynthetic steps through feeding of inhibitors and precursors. J. Plant Physiol. 2009. V. 166. P. 1370–1380.
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.02.006>
- Sorahinobar M., Jahedi A., Safaie N. et al. Dual functional role of salicylic acid against *Fusarium*; long lasting priming and direct immediate effect. Intl. J. Farm Al. Sci. 2015. V. 4 (5). P. 442–447.
- Tarchevsky I.A. Plant cell signaling systems. Moscow, Nauka, 2002 (in Russ.).
- Tarchevsky I.A., Yakovleva V.G., Egorova A.M. Salicylate-induced modification of proteomes in plants and induction of the PR group (pathogenesis-related) proteins, in particular chitinases, glucanases and protease inhibitors. Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. 2010. V. 46 (3). P. 263–275 (in Russ.).
- Tepliyakov B.I. Diseases of spring wheat in Western Siberia. Zashchita i karantin rasteniy. 2003. № 1. P. 17–18 (in Russ.).
- Tyuterev S.L. Natural and synthetic inducers of plant resistance to disease. VIZR, SPb., 2014 (in Russ.).
- Vasyukova N.I., Ozeretskovskaya O.L. Induced plant resistance and salicylic acid (review). Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. 2007. V. 43 (4). P. 405–411 (in Russ.).
<https://doi.org/10.1007/s12088-007-0054-2>
- Vio-Michaelis S., Apablaza-Hidalgo G., Gómez M. et al. Antifungal activity of three Chilean plant extracts on *Botrytis cinerea*. Bot. Sci. 2012. V. 90. P. 179–183.
- Vlot A.C., Dempsey D.A., Klessig D.F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. Ann. Rev. Phytopathol. 2009. V. 47. P. 177–206.
<https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.050908.135202>
- Volynets A.P. Phenolic compounds in the life of plants. Minsk, 2013 (in Russ.).
- Wang L., Tsuda K., Truman W. et al. CBP60g and SARD1 play partially redundant critical roles in salicylic acid signaling. Plant J. 2011. V. 67. P. 1029–1041.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04655.x>
- Wang L.J., Li S.H. Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to Ca²⁺ homeostasis and antioxidant systems in young grape plants. Plant Sci. 2006. V. 170. P. 685–694.
<https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.050908.135202>
- Yarullina L.G., Troshina N.B., Cherepanova E.G. et al. Salicylic and jasmonic acids in the regulation of the pro-antioxidant status of wheat leaves with *Septoria nodorum* Berk. infection. Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. 2011. V. 47 (5). P. 602–608 (in Russ.).
- Zakariyya F., Susilo A.W., Santoso T.I. et al. Role of exogenous salicylic acid and benzoic acid applications. Pelita Perkebunan. 2018. V. 33 (3). P. 33–39.

- Zhang J., Zhou J.M. Plant immunity triggered by microbial molecular signatures. *Molecular Plant*. 2010. P. 1–11. <https://doi.org/10.1093/mp/ssq035>
- Zurbriggen M.D., Carrillo N., Hajirezaei M.R. Ros signaling in the hypersensitive response. *Plant signaling and Behavior*. 2010. V. 5. P. 393–396. <https://doi.org/10.4161/psb.5.4.10793>
- Билай В.И. (Bilay) Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. 275 с.
- Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л. (Vasiukova, Ozeretskovskaya) Индуцированная устойчивость растений салициловая кислота (обзор) // Прикл. биохимия и микробиология. 2007. Т. 43. № 4. С. 405–411.
- Волынец А.П. (Volynets) Фенольные соединения в жизнедеятельности растений. Минск, 2013. 283 с.
- Гультияева Е.И., Шайдаюк Е.Л., Шипилова Н.П. и др. (Gultiaeva et al.) Фитосанитарный мониторинг болезней пшеницы в Северо-западном регионе в 2015 г. // Защита и карантин растений. 2016. № 4. С. 29–31.
- Максимов И.В., Сорокань И.В., Черепанова Е.А. и др. (Maksimov et al.) Влияние салициловой и жасмоновой кислот на компоненты про/антиоксидантной системы в растениях картофеля при фитофторозе // Физиология растений. 2011. Т. 58. № 2. С. 243–251.
- Методические рекомендации по испытанию химических веществ на фунгицидную активность (Methodic recommendations). Черкассы: ВНИИ ХСЗР, 1990. 68 с.
- Михайлова Л.А., Мироненко Н.В., Коваленко Н.М. (Mikhailova et al.) Желтая пятнистость пшеницы. Методические указания по изучению популяций возбудителя желтой пятнистости *Pyrenophora tritici-repentis* и устойчивости сортов. СПб., 2012. 56 с.
- Новиков Н.Н., Таразанова Т.В. (Novikov, Tarazanova) Лабораторный практикум по биохимии растений: Учебное пособие. М.: Издательство РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2012. 97 с.
- Плотникова Л.Я., Штубей Т.Ю. (Plotnikova, Shtubei) Влияние салициловой и янтарной кислот на цитопатологические реакции пшеницы, инфицированной бурой ржавчиной // Цитология. 2009. Т. 51. № 1. С. 43–53.
- Попова Э.В., Коваленко Н.М., Сокорнова С.В. и др. (Popova et al.) Влияние салициловой кислоты и ванилина на устойчивость пшеницы к возбудителю темной бурой пятнистости *Cochliobolus sativus* // Микология и фитопатология. 2017. Т. 51. № 3. С. 178–182.
- Тарчевский И.А. (Tarchevskiy) Сигнальные системы клеток растений. М.: Наука, 2002. 294 с.
- Тарчевский И.А., Яковлева В.Г., Егорова А.М. (Tarchevskiy et al.) Салицилат-индуцированная модификация протеомов у растений и индукции группы PR (pathogenesis-related)-белков, в частности, хитиназы, глюканазы и ингибиторов протеаз // Прикл. биохимия и микробиология. 2010. Т. 46. № 3. С. 263–275.
- Тепляков Б.И. (Teplakov) Болезни яровой пшеницы в Западной Сибири // Защита и карантин растений. 2003. № 1. С. 17–18.
- Тютерева С.Л. (Tyutereva) Природные и синтетические индукторы устойчивости растений к болезням. СПб.: ВИЗР, 2014. 212 с.
- Яруллина Л.Г., Трошина Н.Б., Черепанова Е.Г. и др. (Yarullina et al.) Салициловая и жасмоновая кислоты в регуляции про-антиоксидантного статуса листьев пшеницы при инфицировании *Septoria nodorum* Berk. // Прикладная биохимия и микробиология. 2011. Т. 47. № 5. С. 602–608.

Fungistatic and Inducing Activity of Benzoic Acids in the “Wheat – *Cochliobolus sativus*” Pathosystem

E. V. Popova^{a, #} and N. M. Kovalenko^{a, ##}

^a All-Russian Research Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

[#]e-mail: elzavpopova@mail.ru,

^{##}e-mail: nadyakov@mail.ru

The paper provides a comparative assessment of the fungistatic activity of SA, BA, and p-HBA, as well as their ability to induce resistance to dark brown spot in the pathosystem “wheat – *Cochliobolus sativus* (the causative agent of dark brown spot). It is shown that exogenous salicylic and benzoic acids in the concentration range of 0.2–5.0 mM increase the resistance of wheat plants to dark brown spot and their inducing efficiency correlates with the concentration. The highest immunomodulatory activity of SA and BA is demonstrated at a concentration of 5 mM. p-HBA in the studied concentration range of 0.2–5 mM is less effective as a resistance inducer. It has been demonstrated that the effect of exogenous SA, BA, and p-HBA in increasing the resistance of wheat plants to *C. sativus* is associated with their ability to inhibit catalase during plant infection, which leads to the accumulation of peroxide, which is required to neutralize the phytopathogen in tissues, as well as to induce defense reactions cells. A direct relationship was found between the concentration of benzoic acids and the degree of inhibition of the growth of the mycelium of the fungus *C. sativus*. SA, BA at a concentration of 0.5–7.0 mM practically do not affect the growth of mycelium during 7 days of cultivation. An increase in the concentration of substances to 10 mM leads to 100% suppression of the linear growth of the mycelium of the fungus *C. sativus*. p-HBA, in contrast to SA and BA, does not exhibit fungistatic properties up to a concentration of 10 mM. Complete inhibition of the growth and development of the pathogen mycelium was observed at a concentration of p-HBA in the medium of 100 mM, which is 10 times higher than the concentration of SA and BA to obtain the same effect. Studies have shown that, in addition to their role as inducers of disease resistance, exogenous SA and BA can prevent the colonization of tissues of *C. sativus* plants, exhibiting fungistatic activity.

Keywords: benzoic acid, dark brown spotting, fungistatic activity, p-hydroxybenzoic acid, induced resistance, salicylic acid, wheat

УДК 581.52 : 582.284

MYCOLOGICAL HERITAGE OF JOHANN BUXBAUM. 1. FUNGI DESCRIBED IN THE FIRST “CENTURIA” ISSUE (1728)

© 2021 г. I. V. Zmitrovich^{1,*} and A. K. Sytin^{1,**}

¹ Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, 197376 St. Petersburg, Russia

*e-mail: iv_zmitrovich@mail.ru

**e-mail: astragalus@mail.ru

Received September 1, 2020; revised October 10, 2020; accepted November 19, 2020

The mycological heritage of Johann Christian Buxbaum is still little explored, but this issue has not only a great historical interest. In recent taxonomy, there is a tendency to splitting of “linneones” species complexes and in some cases it becomes justified even to appeal to pre-Linnean authors. The corpus of remarkable Buxbaum’s drawings is still waiting for monographs in mycology field. The purpose of opened notices series is draw an attention of mycologists to figures of Buxbaum’s “Centuria”. In the first “Centuria” issue (1728) we can find descriptions and illustrations of five fungal species: 1) *Agaricus barbatus flavescens*, 2) *Agaricus gelatinosus, parte prona erinaceus*, 3) *Fungus erinaceus parvus in conis Abietis deiectis nascens*, 4) *Fungus parvus albus deiectis abietis nascens*, 5) *Lycoperdon magnum globosum, pulpa granulata, radice crassa*. The analysis of descriptions and original drawings made it possible to correlate these descriptions with 5 modern agaricomycetes species: *Hericium cirrhatum*, *H. erinaceus*, *Auriscalpium vulgare*, *Baeospora myosura*, and *Lycoperdon excipuliforme*. The nomenclature of these taxa is presented and their homogeneity is preliminary estimated in the light of current data.

Keywords: *Auriscalpium*, agaricomycetes, *Baeospora*, botanists of the 18th century, drawings of fungi, *Hericium*, *Lycoperdon*, morphology, nomenclature

DOI: 10.31857/S0026364821010128

Johann Christian Buxbaum (1693–1730), naturalist and explorer of southeastern Europe, Asia Minor, and the Caucasus, was the first academician botanist of the St. Petersburg Academy of Sciences. He was born in Merseburg (Saxony). In 1721, under the direction of Heinrich Bernhard Ruppius (1688–1719), J.C. Buxbaum published in Halle his pioneering work entitled “Enumeratio plantarum precision in agro Hallensi locisque vicinis crescentium”. This essay was commended by experts, and therefore, when Peter the Great turned to the venerable German physician Friedrich Hoffmann with a request to recommend a botanist capable of studying the Russian flora, J.C. Buxbaum was named the most worthy. Invited by the Medical College to St. Petersburg in the same 1721, the 28-year-old scientist took an active participation in organizing the botanical garden, lectured on botany to medical students, and made extensive botanic excursions collecting plants and fungi in St. Petersburg vicinities.

As a physician and naturalist, Buxbaum went to Constantinopolis in 1724 as part of the Russian embassy under the command of Count Alexander Rumyantsev. According to the instructions by great physician Laurence Blumentrost, he had to carry out thorough research, paying particular attention to medicinal plants. The full-time draftsman, painter Johann Christian Mattarnovi with his assistant apprentice was as-

signed to him. J.C. Buxbaum’s reports were published in the proceedings of the Academy of Sciences “Commentarii Academiae Scientiarum Petropolitanae”.

The report of the Academy of Sciences of August 27, 1727, proclaims: “Johann Christian Buxbaum, Professor of botany, the first centuria of new herbal species collected in his Turkish foray submits under Academy of Sciences attention; he also puts in order other things and began to write the natural history of Prussia, Livonia, and Ingria, concerning specially to the proper herbs”.

A total of 5 “Centuria” (sets on 100 species) under the title “Plantarum minus cognitarum centuria circa Byzantium et in Oriente observatos” were published by the St. Petersburg Academy of Sciences. Basically, they describe and well illustrate the vascular plants associated with various habitats of North Africa, the Eastern Mediterranean, and South Russia. But among these several species of mosses, lichens, algae, and fungi were scattered, whereas their drawings were made with amazing for their time and sometimes almost photographic accuracy.

The archive of the Russian Academy of Sciences in St. Petersburg contains materials that formed the sources material for Buxbaum’s “Centuria” engraving. First of all, these are drawings made directly during the expedition by Johann Christian Mattarnovi. They are

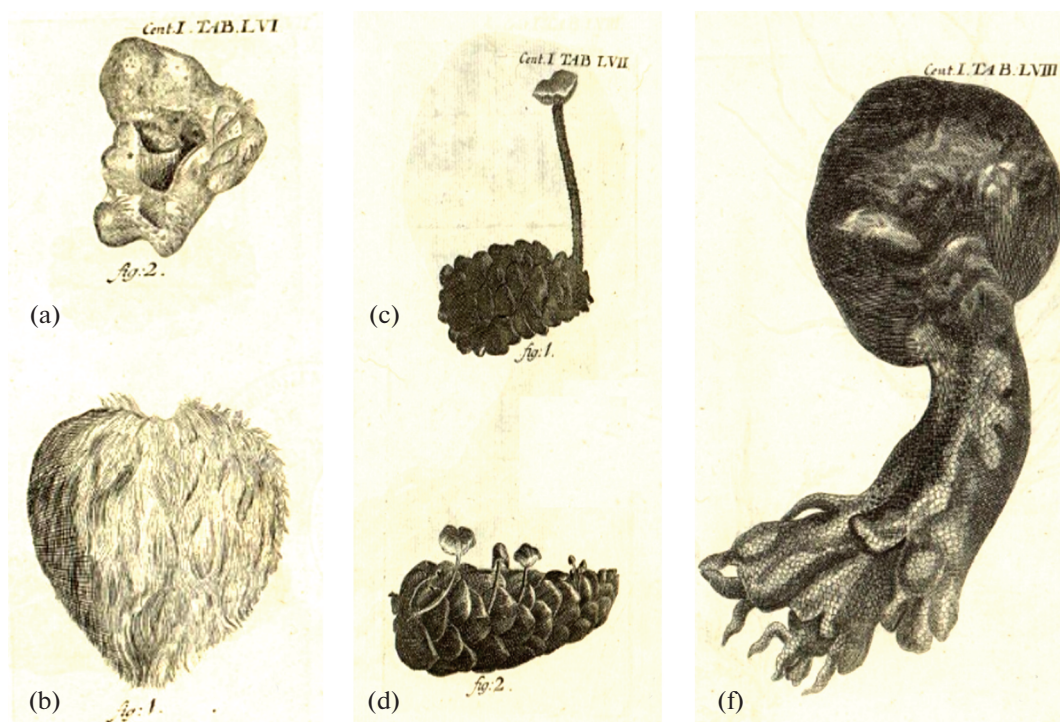


Fig. 1. Engravings from drawings to Buxbaum's "Centuria" I (Buxbaum, 1728) published within a book tables: a – *Agaricus barbatus flavescens* (*Hericium cirrhatum* in modern taxonomy); b – *Agaricus gelatinosus, parte prona erinaceus* (*Hericium erinaceus* in modern taxonomy); c – *Fungus erinaceus parvus in conis Abietis deiectis nascens* (*Auriscalpium vulgare* in modern taxonomy); d – *Fungus parvus albus ex conis Abietis deiectis nascens* (*Baeospora myosura* in modern taxonomy); f – *Lycoperdon magnum globosum, pulpa granulata, radice crassa* (*Lycoperdon excipuliforme* in modern taxonomy).

made in watercolors on paper without watermarks and have a preliminary outline drawn in pencil. The image of a shadow falling from a natural object is very characteristic. Some of the sources were made in the form of copies after the expedition. They are done in watercolors using tempera and other pigments, usually on paper already with watermarks. Apart from Johann Christian Mattarnovi, this work could also have been done by Dorothea Maria Gzell. The engravings from these drawings on a copper plate, due to the imperfection of this technique, in no way conveyed all the charm of the original drawings when replicating, but they also accurately captured the shape of objects of the plant world (Sytn, 2004).

The mycological heritage of Johann Christian Buxbaum is little explored till now, but this has not only a great historical interest. In recent taxonomy, there is a tendency splitting of "linneones" species complexes and in some cases it becomes justified even to appeal to pre-Linnean authors. The corpus of remarkable Buxbaum's drawings is still waiting for monographs in mycology field.

The purpose of the presented notice series is to draw an attention of monographs to the corpus of drawings of Buxbaum's "Centuria". In the first "Centuria" issue (Buxbaum, 1728) we can find descriptions and illustrations of 5 species of fungi (in pre-Linnean polynomial

nomenclature). This notice is devoted to the analysis of these descriptions and illustrations (Fig. 1).

1. *Agaricus barbatus flavescens* – p. 35, tab. LVI, Fig. I.¹

"Adnascitur castaneis mollis et spongiosus, interior substantia albicans, superficies vero tota innumeris aculeis concavis instar Fungi erinacei, multo tamen longioribus flavescentibus cingitur. Cordiformis fere figurae barbari aliquatenus refert, hinc nomen barbati imponere plaquit. In Thracia prope pagum Belgrad collegi Autumno".

Current status. Based on figure shape and description (laterally attached lingulate fruit body, covered with teeth not only from the side of the hymenophore, but also from the upperside, spongy consistency and surface and tissue color), the hydroid agaricomycete *Hericium cirrhatum* (Agaricomycetes, *Hericiaceae*, *Russulales*), without any doubts, is presented here.

Post-linnean synonymy: *Hericium cirrhatum* (Pers.) Nikol., Acta Inst. Bot. Acad. Sci. USSR Plant. Crypt., Ser. II 6: 343, 1950. ≡ *Hydnum cirrhatum* Pers., Neues Mag. Bot. 1: 109, 1794. = *H. corrugatum* Fr., Observ. mycol. 2: 269, 1818. = *H. diversidens* Fr., Syst. mycol. 1: 411, 1821. = *H. paradoxum* Schultz, Prodr. Fl. Starg.: 492, 1806.

¹ Protologues refer to page and table number of the original description (Buxbaum, 1728).

Modern monograph: Stalpers (1996).

Note. Possessing a known reserve of modification variability, the species is quite stable at the micromorphology level. At present, no prerequisites for this taxon splitting are seen.

2. *Agaricus gelatinosus*, *parte prona erinaceus* — p. 36, tab. LVI, Fig. II.

“Noti sunt *Agarici lamellati*, porosi et utrisque destituti, qui vocantur membranacei. Hic exhibemus aliam *Agarici* speciem, quae loco lamellarum aut poporum appendiculis aculeatis instar linguae vitulinae exasperatur, et *Fungum erinaceum* I. B. iuniorum refert. Color est dilute coeruleus aut purpurascens antiquarum *Alnorum* truncis adnascitur Autumno”.

Current status. The characteristic capitata fruiting body covered with downward-facing teeth, a rather cartilaginous-fleshy-waxy consistency and variations in the base of the marsh coloration (with a blue tinge or purplish-brownish when cut), make it possible to unequivocally identify *Hericum erinaceus* (*Agaricomycetes*, *Hericiaceae*, *Russulales*).

Post-Linnean synonymy: *Hericum erinaceus* (Bull.) Pers., *Comm. fung. clav.* (Lipsiae): 27, 1797. = *Hydnum erinaceus* Bull., *Herb. Fr.* 1: tab. 34, 1781. = *Martella echinus* Scop., *Annus hist.-nat.* 4: 151, 1770. = *Manina cordiformis* Scop., *Diss. sci. nat.*, Edn 1: 97, 1772. = *Hydnum hystricinum* Batsch, *Elench. fung.*: 113, 1783. = *H. caput-medusae* Bull., *Herb. Fr.* 9: tab. 412, 1789. = *Clavaria conferta* Paulet, *Traité champ.* 2 (Index): 427, 1793. = *Hericum hystrix* Pers., *Comm. fung. clav.*: 27, 1797. = *Hericum grande* Raf., *Ann. Bot.* 1: 237, 1813.

Modern monograph: Stalpers (1996).

Note. Like *H. cirrhatum*, the species is outwardly polymorphic, but micromorphologically rather constant. Many old authors used the noun as a species epithet (*echinus*, *hystrix*, *erinaceus*), and these names were sanctioned by Fries (1821) as separate species. The name *Agaricus gelatinosus* J.F. Gmel., *Syst. Nat.* 2 (2): 1429, 1792 is currently is connected to another agaricomycete species, *Crepidotus mollis* (Schaeff.) Staude, *Schwämme Mitteleutschl.* 25: 71, 1857 (*Agaricales*, *Crepidotaceae*).

3. *Fungus erinaceus parvus in conis Abietis deiectis nascens* — p. 36, tab. LVII, Fig. I.

“Fuscus est et hirsutus, cuius pediculus non in mediam insteritur capitulum, sed in margine, spinulae molles albicantes loco lamellarum sub capitulo prominent. Occurrit in conis deiectis *Abietis rubrae* Autumno”.

Current status. A spiny hymenophore, hard consistency, brown pubescent pileus and stipe, coupled with a characteristic habitat on a fallen cone, undoubtedly indicate on *Auriscalpium vulgare* (*Agaricomycetes*, *Russulales*, *Auriscalpiaceae*).

Post-Linnean synonymy: *Auriscalpium vulgare* Gray, *Nat. Arr. Brit. Pl.* 1: 650, 1821. = *Hydnum auri-*

scalpium L., *Sp. pl.* 2: 1178, 1753. = *Hydnum fechtneri* Velen., *České Houby* 4–5: 746, 1922.

Modern monograph: Stalpers (1996).

Note. Till now, no any prerequisites for splitting of this taxon.

4. *Fungus parvus albus ex conis Abietis deiectis nascens* — p. 36–37, tab. LVII, Fig. II.

“Intra squimas putrescentis coni ex media costa, cui squamae adherent, provenit ex multis radiculis fibrosis, deinde secundum squamae tractum flexus, quando ex illa exit, se erigit, totus albus et tener, creberrimis sultus instructus lamellis. Quae lamellae non statim circa oras capituli incipiunt, sed marginem aliquem relinquunt, nec terminantur in pediculum et triplicis sunt magnitudinis. Color capituli interdum subfuscus, ut et in pediculo. Tortuosus nonnunquam radicibus uncialibus aut longioribus instruitur, quae tamen in cono terra operto radicanur. Occurrit passim Augusto”.

Current status. The small-sized fleshy (not dry, like in *Marasmius* s.l.) fruiting bodies, the convex, but not bell-shaped (like in *Mycena*) and not funnel-shaped (like in *Omphalina* s.l.) brownish pileus, coupled with the habitat on the fallen cone, undoubtedly indicate on *Baeospora myosura* (*Agaricomycetes*, *Agaricales*, *Marasmiaceae*).

Post-Linnean synonymy: *Baeospora myosura* (Fr.) Singer, *Revue Mycol.*, Paris 3: 193, 1938. = *Agaricus myosurus* Fr., *Observ. mycol.* 2: 129, 1818. = *Marasmius varicosus* Fr., *Epicr. syst. mycol.*: 376, 1838. = *Collybia friesii* Bres., *Iconogr. Mycol.* 5: tab. 214, 1928.

Modern monograph: Maas Geesteranus, Horak (1995).

Note. According some data (Hutchinson et al., 2012), here can be hidden the species complex.

5. *Lycoperdon magnum globosum, pulpa granulata, radice crassa* — p. 37, tab. LVIII.

“Radix solida, lutea, multis soveis nigricante mucore repletis distincta, inferius in ramos spongiosos et tandem in reticulum definit. Huic radici insistit globus magnus, coloris nigricantis fusco permixti, valde sordidus, cuius pulpa, si nempe iunior, tota ex granis albicantibus, materia mucida nigro fusco colore digitos inficiente turgidis, constat. Fatiscit tandem in pulverem more reliquorum Lycoperdorum, folidiorem tamen et magis compactum, qui quadantenus pulverem sternutatorium Hispanicum in pyxide adhuc compressum refert. Sub arena primo latet, uti Tubera, deinde prorumpit et cum parte radice eminet. Scrobium arenosarum margines amat Octobri. Collegi propi Astracano, occurrit etiam in Ingria”.

Current status. Somewhat swollen base of the fruit body, together with a pronounced head, a characteristic longitudinal depressions, the color range of the medial stages of peridium degradation, clearly indicate on *Lycoperdon excipuliforme* (*Agaricomycetes*, *Agaricales*, *Lycoperdaceae*).

Post-Linnean synonymy: *Lycoperdon excipuliforme* (Scop.) Pers., Syn. meth. fung. 1: 143, 1801. ≡ *L. polymorphum* var. *excipuliforme* Scop., Fl. Carniol. 2: 488, 1772. = *L. boletiforme* Batsch, Elench. fung.: 149, 1783. = *L. saccatum* Vahl, Fl. Danic. 7: tab. 1139, 1794.

Modern monograph: Moyersoen, Demoulin (1996).

Note. This is a moderately variable, rather a good species with stable nomenclature. However its generic position stays unstable till now.

Subsequent notes will focus on mycological material of "Centuria" II–V.

The work was supported by the RFBR grant (N 20-011-42010) and the State Research Task N AAAA-A19-119020890079-6.

REFERENCES

- Buxbaum J.C.* Plantarum minus cognitarum. Centuria I. Plantas circa Byzantium et in Oriente observatos. Typographia Academiae, Petropolis, 1728.
- Fries E.M.* Systema mycologicum, sistens fungorum ordines, genera et species, huc usque cognitatas, quas ad normam methodi naturalis determinavit, disposuisti atque descripsisti. V. 1. Gryphiswald, 1821.
- Hutchinson L.J., Kropp B.R., Hausner G.* *Baeospora occidentalis*, a new snowbank agaric from western North America. Mycoscience. 2012. V. 53. P. 139–143.
- Maas Geesteranus R.A., Horak E.* *Mycena* and related genera from Papua New Guinea and New Caledonia. Bibliotheca Mycol. 1995. V. 159. P. 143–229.
- Moyersoen B., Demoulin V.* Les Gastéromycètes de Corse: taxonomie, écologie, chorologie. Lejeunia. 1996. V. 152. P. 1–128.
- Stalpers J.A.* The aphyllophoraceous fungi II. Keys to the species of the *Hericiales*. Stud. Mycol. 1996. № 40. P. 1–184.
- Sytin A.K.* Botanical drawings of the Peter the Great Kunstkamera and J.C. Buxbaum. In: The "Painted Museum" of the Petersburg's Academy of Sciences. 1725–1760. T. 2. European House, St. Petersburg, 2004. P. 123–125.
- Сытин А.К. (Sytin)* Ботанические рисунки Петровской Кунсткамеры и И.Х. Буксбаум // "Нарисованный музей" Петербургской академии наук. 1725–1760. Т. 2. СПб.: Европейский дом, 2004. С. 123–125.

Микологическое наследие Иоганна Буксбаума.

1. Грибы, описанные в первой "Центурии" (1728)

И. В. Змитрович^{а, #}, А. К. Сытин^{а, ##}

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

[#] e-mail: iv_zmitrovich@mail.ru

^{##} e-mail: astragalus@mail.ru

Микологическое наследие Иоганна Христиана Буксбаума еще мало освоено, но оно представляет не только исторический интерес. В настоящее время наметилась тенденция дробления видов-линнеонов и в некоторых номенклатурных ситуациях становится оправданным обращение к работам долинеевских авторов. Корпус замечательно исполненных рисунков Буксбаума до сих пор ждет микологов-монографов. Целью учреждаемой серии заметок является привлечение внимания к корпусу рисунков, иллюстрирующих "сотницы" (центурии) Буксбаума. В первой центурии (1728) можно найти описания и иллюстрации пяти видов грибов: 1) *Agaricus barbatus flavescens*, 2) *Agaricus gelatinosus, parte prona erinaceus*, 3) *Fungus erinaceus parvus in conis Abietis deiectionis nascens*, 4) *Fungus parvus albus ex conis Abietis deiectionis nascens*, 5) *Lycoperdon magnum globosum, pulpa granulata, radice crassa*. Проведенный анализ описаний и оригинальных рисунков позволил соотнести эти описания с пятью видами агарикомицетов: *Hericium cirrhatum*, *H. erinaceus*, *Auriscalpium vulgare*, *Baeospora myosura*, *Lycoperdon excipuliforme*. Представлена номенклатура этих таксонов и предварительно оценена их гомогенность в свете современных данных.

Ключевые слова: агарикомицеты, ботаники XVIII в., морфология, номенклатура, рисунки грибов, *Auriscalpium*, *Baeospora*, *Hericium*, *Lycoperdon*

О СОЗДАНИИ НОВОГО ЭЛЕКТРОННОГО АРХИВА НАУЧНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМАТИКЕ “ХИМИЯ, БИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ”

On foundation of new electronic archive of scientific publications

“Chemistry, Biology, and Physiology”

DOI: 10.31857/S0026364821010098

В целях поддержки продвижения научных журналов в 2020 г. Министерство науки и высшего образования РФ объявило конкурсы на создание семи электронных архивов выпусков журналов по математике, медицине, химии, общественным и ряду других наук.

Конкурсы объявлены в рамках федеральной целевой программы (ФЦП) “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы”.

Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН выиграл конкурс по созданию архива по тематическому направлению “Химия, биология и физиология”. Основой данного архива станет коллекция выпусков ведущих журналов Российской академии наук за период с 2000 по 2008 гг.: “Доклады академии наук”, “Журнал физической химии”, “Физикохимия поверхности и защита материалов”, “Радиохимия”, “Электрохимия”, “Коллоидный журнал”, “Нефтехимия”, “Журнал прикладной химии”, “Высокомолекулярные соединения. Серия А”, “Высокомолекулярные соединения. Серия В”, “Высокомолекулярные соединения. Серия С”.

Основными целями создания открытого электронного архива в соответствии с заданием Министерства являются: распространение научных знаний и создание научно-популярного, информационного издания, объясняющего общественную ценность научной деятельности; вовлечение российского общества в изучение текущих и про-

шлых достижений российской науки; раскрытие богатства и многообразия научной жизни России; в популярном, понятном виде создание коллекций докладов на научных конференциях, учебных курсах, лекциях российских и зарубежных ученых на проходящих в России научных мероприятиях; демонстрация научных комментариев к событиям и явлениям в природе и обществе.

Актуальность создания открытого электронного архива связана с растущей востребованностью библиографических баз данных о публикациях в научных журналах, серийных изданиях и книгах, материалов научных мероприятий. Однако существующие тематические ресурсы в конкретных предметных областях обычно содержат чрезвычайно ограниченный объем информации. Отсутствуют оцифрованные данные о большинстве научных публикаций на русском языке ведущих академических изданий, представляющих особую ценность для мировой науки.

В рамках данного проекта будет создан архив из скан-копий российских журналов и материалов научных мероприятий по тематическим направлениям в области химии, биологии и физиологии. Таким образом, на основе коллекции электронных версий ведущих научных журналов будут сформированы профильные ресурсы научного и научно-популярного характера в свободном доступе.

Работа по созданию архива должна быть завершена к концу 2020 г. Каталог архива будет размещен на сайте PhysChemBio.ru.

Алфавитный указатель авторов тома 54, “Микология и фитопатология” Authors index (“Mycology and Phytopathology”, V. 54, 2020)

DOI: 10.31857/S0026364821010037

	№	Стр.
Аветисян Г.А., Аветисян Т.В. Особенности формирования гало на пораженных мучнистой росой листьях пшеницы при окислительном стрессе	1	16
Аветисян Т.В. см. Г.А. Аветисян, Т.В. Аветисян	1	16
Аветисян Т.В. см. А.В. Бабоша, Т.В. Аветисян	3	183
Агишев В.С. см. М.М. Хотамов, В.С. Агишев, И.Г. Ахмеджанов	5	340
Асылбек А.М. см. Е.В. Рахимова, Б.Д. Ермекова, Л.А. Кызметова, А.М. Асылбек	2	116
Ахмеджанов И.Г. см. М.М. Хотамов, В.С. Агишев, И.Г. Ахмеджанов	5	340
Бабоша А.В., Аветисян Т.В. Влияние метаболических ингибиторов на размеры и структуру гало, индуцированных возбудителем мучнистой росы <i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> на листьях пшеницы	3	183
Бакулина А.В. см. И.Г. Широких, А.В. Бакулина, Я.И. Назарова, А.А. Широких, Л.М. Козлова	1	59
Балабко П.Н. см. Д.Ю. Рязанцев, Е.М. Чудинова, Л.Ю. Кокаева, С.Н. Еланский, П.Н. Балабко, Г.Л. Белов, С.К. Завриев	1	42
Белов Г.Л. см. Д.Ю. Рязанцев, Е.М. Чудинова, Л.Ю. Кокаева, С.Н. Еланский, П.Н. Балабко, Г.Л. Белов, С.К. Завриев	1	42
Берестецкий А.О., Григорьева Е.Н., Петрова М.О., Сендерский И.В., Степанычева Е.А. Влияние состава питательного субстрата на спектр биологической активности экстрактов из культур различных изолятов гриба <i>Bipolaris sorokiniana</i>	3	195
Биланенко Е.Н. см. Е.И. Корниенко, Л.Ю. Кокаева, Е.Н. Биланенко, В.Л. Мокеева, Т.С. Шаркова, А.А. Осмоловский	3	206
Бобир С.Ю. см. К.В. Сазанова, М.С. Зеленская, С.Ю. Бобир, Д.Ю. Власов	5	329
Бобырева Т.В. см. А.А. Кривушина, Т.В. Бобырева, В.Л. Мокеева	2	143
Богачева А.В., Бухарова Н.В. Весенние грибы елово-пихтовых лесов Ботчинского заповедника (Хабаровский край)	3	157
Богданова Т.В. см. И.А. Рябинин, Н.В. Васильева, Т.В. Богданова	6	436
Бойко Н.И. см. Е.С. Сколотнева, В.Н. Кельбин, А.И. Моргунов, Н.И. Бойко, В.П. Шаманин, Е.А. Салина	1	49
Большаков С.Ю., Калинина Л.Б., Волобуев С.В., Ребриев Ю.А., Ширяев А.Г., Химич Ю.Р., Власенко В.А., Леострин А.В., Шахова Н.В., Власенко А.В., Дэжидмаа Т., Ежов О.Н., Змитрович И.В. Новые виды для микобиот регионов России. 5. Информационное сообщение — 2020	6	404
Бондарцева М.А., Змитрович И.В. Род <i>Sistotrema</i> (<i>Cantharellales</i> , <i>Hydnaceae</i>) в России	1	3
Бондарцева М.А., Змитрович И.В. Род <i>Clavulina</i> (<i>Cantharellales</i> , <i>Hydnaceae</i>) в России	6	414
Боталов В.С., Переведенцева Л.Г. Мониторинг агарикоидных подстилочных сапротрофов в сосновых лесах Пермского края	6	426
Булах Е.М. см. Ю.А. Ребриев, Е.М. Булах, Н.А. Сазанова, А.Г. Ширяев	4	278
Бухарова Н.В. см. А.В. Богачева, Н.В. Бухарова	3	157
Валиулина А.Ф. см. Т.И. Голованова, Н.А. Гаевский, А.Ф. Валиулина, Ю.А. Литовка	2	134
Васильева Н.В. см. И.А. Рябинин, Н.В. Васильева, Т.В. Богданова	6	436
Власенко А.В. см. С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина, С.В. Волобуев, Ю.А. Ребриев, А.Г. Ширяев, Ю.Р. Химич, В.А. Власенко, А.В. Леострин, Н.В. Шахова, А.В. Власенко, Т. Дэжидмаа, О.Н. Ежов, И.В. Змитрович	6	404
Власенко В.А. см. С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина, С.В. Волобуев, Ю.А. Ребриев, А.Г. Ширяев, Ю.Р. Химич, В.А. Власенко, А.В. Леострин, Н.В. Шахова, А.В. Власенко, Т. Дэжидмаа, О.Н. Ежов, И.В. Змитрович	6	404
Власов Д.Ю. см. К.В. Сазанова, Д.Ю. Власов	3	214
Власов Д.Ю. см. К.В. Сазанова, М.С. Зеленская, С.Ю. Бобир, Д.Ю. Власов	5	329

Волкова Г.В., Матвеева И.П., Кудинова О.А. Вирулентность популяции возбудителя желтой ржавчины пшеницы в Северо-Кавказском регионе России	1	33
Волобуев С.В. Афилофороидные грибы национального парка “Самурский” (Дагестан)	4	235
Волобуев С.В. см. С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина, С.В. Волобуев, Ю.А. Ребриев, А.Г. Ширяев, Ю.Р. Химич, В.А. Власенко, А.В. Леострин, Н.В. Шахова, А.В. Власенко, Т. Дэжидмаа, О.Н. Ежов, И.В. Змитрович	6	404
Волобуев С.В. см. Н.В. Шахова, С.В. Волобуев	6	446
Гаврилова О.П. см. Т.Ю. Гагкаева, А.С. Орина, О.П. Гаврилова	5	347
Гаврилова О.П. см. А.С. Орина, О.П. Гаврилова, Т.Ю. Гагкаева, Ф.Б. Ганнибал	5	365
Гагкаева Т.Ю., Орина А.С., Гаврилова О.П. Разнообразие грибов рода <i>Microdochium</i> , выявленных на зерновых культурах в России	5	347
Гагкаева Т.Ю. см. А.С. Орина, О.П. Гаврилова, Т.Ю. Гагкаева, Ф.Б. Ганнибал	5	365
Гаевский Н.А. см. Т.И. Голованова, Н.А. Гаевский, А.Ф. Валиулина, Ю.А. Литовка	2	134
Ганнибал Ф.Б. см. А.С. Орина, О.П. Гаврилова, Т.Ю. Гагкаева, Ф.Б. Ганнибал	5	365
Ганнибал Ф.Б. см. М.М. Гомжина, Ф.Б. Ганнибал	6	452
Глинушкин А.П. см. Г.Д. Соколова, А.П. Глинушкин	6	391
Гмошинский В.И. см. Н.А. Федорова, Ю.К. Новожилов, В.И. Гмошинский	4	288
Голованова Т.И., Гаевский Н.А., Валиулина А.Ф., Литовка Ю.А. Влияние спор <i>Trichoderma asperellum</i> и метаболитов <i>Fusarium sporotrichioides</i> на ростовые процессы и фотосинтетический аппарат пшеницы	2	134
Голубев В.И. Микоциногения у делящихся дрожжей	2	150
Гомжина М.М., Ганнибал Ф.Б. Фомоидные грибы на растениях семейства <i>Asteraceae</i> в микологическом гербарии ВИЗР (LEP)	6	452
Григорьева Е.Н. см. А.О. Берестецкий, Е.Н. Григорьева, М.О. Петрова, И.В. Сендерский, Е.А. Степанычева	3	195
Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л. Вирулентность российских популяций возбудителя желтой ржавчины пшеницы	4	299
Долгих А.В. см. М.В. Корнейкова, Д.А. Никитин, А.В. Долгих, А.С. Сошина	4	264
Дудка В.А. см. И.В. Змитрович, С.В. Шевчук	4	305
Дудка В.А. см. И.В. Змитрович, В.А. Дудка	5	384
Дудка В.А., Змитрович И.В. Микромикеты России: географические и таксономические заметки. 3. <i>Exobasidium sundstroemii</i> (<i>Exobasidiales</i> , <i>Basidiomycota</i>) – новая находка на территории Ленинградской области	6	462
Дурагина К.А. см. А.И. Иванов, К.А. Дурагина	4	254
Дэжидмаа Т. см. С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина, С.В. Волобуев, Ю.А. Ребриев, А.Г. Ширяев, Ю.Р. Химич, В.А. Власенко, А.В. Леострин, Н.В. Шахова, А.В. Власенко, Т. Дэжидмаа, О.Н. Ежов, И.В. Змитрович	6	404
Ежов О.Н. К 15-летию изучения афилофоровых грибов заповедника “Пинежский”: история и новые данные	5	320
Ежов О.Н. см. С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина, С.В. Волобуев, Ю.А. Ребриев, А.Г. Ширяев, Ю.Р. Химич, В.А. Власенко, А.В. Леострин, Н.В. Шахова, А.В. Власенко, Т. Дэжидмаа, О.Н. Ежов, И.В. Змитрович	6	404
Еланский С.Н. см. Д.Ю. Рязанцев, Е.М. Чудинова, Л.Ю. Кокаева, С.Н. Еланский, П.Н. Балабко, Г.Л. Белов, С.К. Завриев	1	42
Ермекова Б.Д. см. Е.В. Рахимова, Б.Д. Ермекова, Л.А. Кызметова, А.М. Асылбек	2	116
Железняков С.В. см. Л.М. Якоби, С.В. Железняков, В.К. Лебедева, Р.В. Сметанин	3	174
Завриев С.К. см. Д.Ю. Рязанцев, Е.М. Чудинова, Л.Ю. Кокаева, С.Н. Еланский, П.Н. Балабко, Г.Л. Белов, С.К. Завриев	1	42
Зеленская М.С. см. К.В. Сазанова, М.С. Зеленская, С.Ю. Бобир, Д.Ю. Власов	5	329
Землянская И.В., Новожилов Ю.К. Миксомикеты (<i>Muxomycetes</i> = <i>Muxogastrea</i>) Индерского солянокупольного района (Западный Казахстан)	4	244
Змитрович И.В. см. М.А. Бондарцева, И.В. Змитрович	1	3
Змитрович И.В., Калиновская Н.И., Мясников А.Г. Дополнительные сведения о микобиоте заказника “Северное побережье Невской губы”: ксилотрофные базидиомикеты парка при усадьбе “Ближние Дубки”	3	228
Змитрович И.В., Дудка В.А., Шевчук С.В. Микромикеты России: географические и таксономические заметки. 1. <i>Chrysomyxa succinea</i> (<i>Pucciniales</i> , <i>Basidiomycota</i>) – новая находка в Санкт-Петербурге и европейской России	4	305

Змитрович И.В., Дудка В.А. Микромицеты России: географические и таксономические заметки. 2. <i>Melampsora arctica</i> (Pucciniales, Basidiomycota) – вариабельность образцов из европейского и сибирского секторов Арктики	5	384
Змитрович И.В. см. В.А. Дудка, И.В. Змитрович	6	462
Змитрович И.В. см. М.А. Бондарцева, И.В. Змитрович	6	414
Змитрович И.В. см. С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина, С.В. Волобуев, Ю.А. Ребриев, А.Г. Ширяев, Ю.Р. Химич, В.А. Власенко, А.В. Леострин, Н.В. Шахова, А.В. Власенко, Т. Дэжидмаа, О.Н. Ежов, И.В. Змитрович	6	404
Зуев А.Г. Микромицеты гифосферы макромицетов: фракционирование стабильных изотопов ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) и структура сообщества	2	79
Иванов А.И., Дурягина К.А. Накопление хрома плодовыми телами агарикомитетов в условиях Пензенской области	4	254
Игнатова Н.И. см. Е.М. Серб, П.Ю. Таджикова, Л.В. Римарева, М.Б. Оверченко, Н.И. Игнатова	1	23
Исиков В.П. Ксилотрофные базидиомитеты, вызывающие комлевые и корневые гнили деревьев и кустарников Крыма	2	86
Казарцев И.А., Леднев Г.Р., Левченко М.В. Видовое и внутривидовое разнообразие грибов рода <i>Beauveria</i> в бореальных лесах на Северо-Западе России	3	162
Калинина Л.Б. см. С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина, С.В. Волобуев, Ю.А. Ребриев, А.Г. Ширяев, Ю.Р. Химич, В.А. Власенко, А.В. Леострин, Н.В. Шахова, А.В. Власенко, Т. Дэжидмаа, О.Н. Ежов, И.В. Змитрович	6	404
Калиновская Н.И. см. И.В. Змитрович, Н.И. Калиновская, А.Г. Мясников	3	228
Камилов Ш.Г., Нуралиев Х.Х., Саттарова Р.К., Хакимов А.А. История развития микологических и фитопатологических исследований в Узбекистане	5	313
Кельбин В.Н. см. Е.С. Сколотнева, В.Н. Кельбин, А.И. Моргунов, Н.И. Бойко, В.П. Шаманин, Е.А. Салина	1	49
Козлова Л.М. см. И.Г. Широких, А.В. Бакулина, Я.И. Назарова, А.А. Широких, Л.М. Козлова	1	59
Кокаева Л.Ю. см. Д.Ю. Рязанцев, Е.М. Чудинова, Л.Ю. Кокаева, С.Н. Еланский, П.Н. Балабко, Г.Л. Белов, С.К. Завриев	1	42
Кокаева Л.Ю. см. Е.И. Корниенко, Л.Ю. Кокаева, Е.Н. Биланенко, В.Л. Мокеева, Т.С. Шаркова, А.А. Осмоловский	3	206
Корнейкова М.В., Никитин Д.А., Долгих А.В., Сошина А.С. Микобиота почв города Апатиты (Мурманская область)	4	264
Корниенко Е.И., Кокаева Л.Ю., Биланенко Е.Н., Мокеева В.Л., Шаркова Т.С., Осмоловский А.А. <i>Sarocladium strictum</i> – перспективный продуцент протеолитических ферментов с выраженной фибринолитической активностью	3	206
Кривушина А.А., Бобырева Т.В., Мокеева В.Л. Способность к развитию в авиационном топливе штаммов “керосинового гриба” <i>Amorphotheca resinae</i> , выделенных из разных местообитаний	2	143
Кудинова О.А. см. Г.В. Волкова, И.П. Матвеева, О.А. Кудинова	1	33
Кузина Е.В. см. Г.Ф. Рафикова, Е.В. Кузина, Е.А. Столярова, С.Р. Мухаматдырова, О.Н. Логинов	2	107
Кызметова Л.А. см. Е.В. Рахимова, Б.Д. Еремкова, Л.А. Кызметова, А.М. Асылбек	2	116
Лебедева В.К. см. Л.М. Якоби, С.В. Железняков, В.К. Лебедева, Р.В. Сметанин	3	174
Левченко М.В. см. И.А. Казарцев, Г.Р. Леднев, М.В. Левченко	3	162
Леднев Г.Р. см. И.А. Казарцев, Г.Р. Леднев, М.В. Левченко	3	162
Леострин А.В. см. С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина, С.В. Волобуев, Ю.А. Ребриев, А.Г. Ширяев, Ю.Р. Химич, В.А. Власенко, А.В. Леострин, Н.В. Шахова, А.В. Власенко, Т. Дэжидмаа, О.Н. Ежов, И.В. Змитрович	6	404
Литовка Ю.А. см. Т.И. Голованова, Н.А. Гаевский, А.Ф. Валиулина, Ю.А. Литовка	2	134
Логинов О.Н. см. Г.Ф. Рафикова, Е.В. Кузина, Е.А. Столярова, С.Р. Мухаматдырова, О.Н. Логинов	2	107
Матвеева И.П. см. Г.В. Волкова, И.П. Матвеева, О.А. Кудинова	1	33
Мелькумов Г.М. Памяти Валентины Николаевны Алфёровой (1939–2019)	4	309
Мерад Д. см. Т. Мехамдия, Д. Мерад, Л. Тишати	3	221
Мехамдия Т., Мерад Д., Тишати Л. Чувствительность изолятов <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (восточный Алжир) к фунгицидам триазолу и стробилурину	3	221
Мокеева В.Л. см. А.А. Кривушина, Т.В. Бобырева, В.Л. Мокеева	2	143
Мокеева В.Л. см. Е.И. Корниенко, Л.Ю. Кокаева, Е.Н. Биланенко, В.Л. Мокеева, Т.С. Шаркова, А.А. Осмоловский	3	206
Моргунов А.И. см. Е.С. Сколотнева, В.Н. Кельбин, А.И. Моргунов, Н.И. Бойко, В.П. Шаманин, Е.А. Салина	1	49

Мухаматдырова С.Р. см. Г.Ф. Рафикова, Е.В. Кузина, Е.А. Столярова, С.Р. Мухаматдырова, О.Н. Логинов	2	107
Мясников А.Г. см. И.В. Змитрович, Н.И. Калиновская, А.Г. Мясников	3	228
Назарова Я.И. см. И.Г. Широких, А.В. Бакулина, Я.И. Назарова, А.А. Широких, Л.М. Козлова	1	59
Нанагюлян С.Г. К юбилею академика НАН Республики Армения Лии Леоновны Осипян	2	153
Нестерова С.В. см. Н.А. Павлюк, О.М. Шелехова, С.В. Нестерова	5	378
Никитин Д.А. см. М.В. Корнейкова, Д.А. Никитин, А.В. Долгих, А.С. Сошина	4	264
Новожилов Ю.К. см. И.В. Землянская, Ю.К. Новожилов	4	244
Новожилов Ю.К. см. Н.А. Федорова, Ю.К. Новожилов, В.И. Гмошинский	4	288
Нуралиев Х.Х. см. Ш.Г. Камилов, Х.Х. Нуралиев, Р.К. Саттарова, А.А. Хакимов	5	313
Оверченко М.Б. см. Е.М. Серба, П.Ю. Таджикова, Л.В. Римарева, М.Б. Оверченко, Н.И. Игнатова	1	23
Орина А.С. см. Т.Ю. Гагкаева, А.С. Орина, О.П. Гаврилова	5	347
Орина А.С., Гаврилова О.П., Гагкаева Т.Ю., Ганнибал Ф.Б. Микромицеты <i>Alternaria</i> spp. и <i>Bipolaris sorokiniana</i> и микотоксины в зерне, выращенном в Уральском Федеральном округе	5	365
Осмоловский А.А. см. Е.И. Корниенко, Л.Ю. Кокаева, Е.Н. Биланенко, В.Л. Мокеева, Т.С. Шаркова, А.А. Осмоловский	3	206
Павлова Л.М. см. Л.П. Шумилова, Л.М. Павлова	2	124
Павлюк Н.А., Шелехова О.М., Нестерова С.В. <i>Pucciniostele mandschurica</i> — возбудитель ржавчины сортовых астильбе	5	378
Паламарчук М.А. Новые сведения об агарикоидных базидиомицетах (<i>Agaricomycetes</i> , <i>Basidiomycota</i>) Республики Коми	2	98
Переведенцева Л.Г. см. В.С. Боталов, Л.Г. Переведенцева	6	426
Петрова М.О. см. А.О. Берестецкий, Е.Н. Григорьева, М.О. Петрова, И.В. Сендерский, Е.А. Степанычева	3	195
Рафикова Г.Ф., Кузина Е.В., Столярова Е.А., Мухаматдырова С.Р., Логинов О.Н. Комплексы микромицетов выщелоченного чернозема при загрязнении нефтью и внесении микроорганизмов-нефтедеструкторов	2	107
Рахимова Е.В., Ермекова Б.Д., Кызметова Л.А., Асылбек А.М. Новые данные для микобиоты Сюгатинских гор (Казахстан)	2	116
Ребриев Ю.А., Булах Е.М., Сазанова Н.А., Ширяев А.Г. Новые для регионов Российского Дальнего Востока виды макромицетов. 1	4	278
Ребриев Ю.А. см. С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина, С.В. Волобуев, Ю.А. Ребриев, А.Г. Ширяев, Ю.Р. Химич, В.А. Власенко, А.В. Леострин, Н.В. Шахова, А.В. Власенко, Т. Дәжидмаа, О.Н. Ежов, И.В. Змитрович	6	404
Римарева Л.В. см. Е.М. Серба, П.Ю. Таджикова, Л.В. Римарева, М.Б. Оверченко, Н.И. Игнатова	1	23
Рябинин И.А., Васильева Н.В., Богданова Т.В. Белки <i>Penicillium chrysogenum</i> , выявляемые при MALDI-TOF-масс-спектрометрии клеточного экстракта	6	436
Рязанцев Д.Ю., Чудинова Е.М., Кокаева Л.Ю., Еланский С.Н., Балабко П.Н., Белов Г.Л., Завриев С.К. Детекция <i>Colletotrichum coccodes</i> с помощью ПЦР в реальном времени	1	42
Сазанова К.В., Власов Д.Ю. Изменение ацидофицирующей активности штаммов <i>Aspergillus niger</i> при адаптации к стрессу	3	214
Сазанова К.В., Зеленская М.С., Бобир С.Ю., Власов Д.Ю. Микромицеты в биопленках на каменных памятниках Санкт-Петербурга	5	329
Сазанова Н.А. см. Ю.А. Ребриев, Е.М. Булах, Н.А. Сазанова, А.Г. Ширяев	4	278
Салина Е.А. см. Е.С. Сколотнева, В.Н. Кельбин, А.И. Моргунов, Н.И. Бойко, В.П. Шаманин, Е.А. Салина	1	49
Саттарова Р.К. см. Ш.Г. Камилов, Х.Х. Нуралиев, Р.К. Саттарова, А.А. Хакимов	5	313
Сендерский И.В. см. А.О. Берестецкий, Е.Н. Григорьева, М.О. Петрова, И.В. Сендерский, Е.А. Степанычева	3	195
Серба Е.М., Таджикова П.Ю., Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И. Получение пептидно-аминокислотных ингредиентов на основе грибной биомассы <i>Aspergillus oryzae</i>	1	23
Сколотнева Е.С., Кельбин В.Н., Моргунов А.И., Бойко Н.И., Шаманин В.П., Салина Е.А. Расовый состав новосибирской популяции <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	1	49
Сметанин Р.В. см. Л.М. Якоби, С.В. Железняков, В.К. Лебедева, Р.В. Сметанин	3	174
Соколова Г.Д., Глинушкин А.П. Механизмы устойчивости к фунгицидам фитопатогенного гриба <i>Fusarium graminearum</i>	6	391
Сошина А.С. см. М.В. Корнейкова, Д.А. Никитин, А.В. Долгих, А.С. Сошина	4	264

Степанычева Е.А. см. А.О. Берестецкий, Е.Н. Григорьева, М.О. Петрова, И.В. Сендерский, Е.А. Степанычева	3	195
Столярова Е.А. см. Г.Ф. Рафикова, Е.В. Кузина, Е.А. Столярова, С.Р. Мухаматдырова, О.Н. Логинов	2	107
Таджибова П.Ю. см. Е.М. Серб, П.Ю. Таджибова, Л.В. Римарева, М.Б. Оверченко, Н.И. Игнатова	1	23
Тишати Л. см. Т. Мехамдия, Д. Мерад, Л. Тишати	3	221
Федорова Н.А., Новожилов Ю.К., Гмошинский В.И. Разнообразие миксомицетов (<i>Muxomycetes</i> = <i>Muxogastrea</i>) в горных тропических лесах заповедника Фиаоак (Северный Вьетнам), выявленное методом влажной камеры	4	288
Хакимов А.А. см. Ш.Г. Камилов, Х.Х. Нуралиев, Р.К. Саттарова, А.А. Хакимов	5	313
Химич Ю.Р. см. С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина, С.В. Волобуев, Ю.А. Ребриев, А.Г. Ширияев, Ю.Р. Химич, В.А. Власенко, А.В. Леострин, Н.В. Шахова, А.В. Власенко, Т. Дэжидмаа, О.Н. Ежов, И.В. Змитрович	6	404
Хотамов М.М., Агишев В.С., Ахмеджанов И.Г. Влияние заражения вертициллезным вилтом на функциональную активность фотосинтетического аппарата хлопчатника	5	340
Чудинова Е.М. см. Д.Ю. Рязанцев, Е.М. Чудинова, Л.Ю. Кокаева, С.Н. Еланский, П.Н. Балабко, Г.Л. Белов, С.К. Завриев	1	42
Шайдаюк Е.Л. см. Е.И. Гульятеева, Е.Л. Шайдаюк	4	299
Шаманин В.П. см. Е.С. Сколотнева, В.Н. Кельбин, А.И. Моргунов, Н.И. Бойко, В.П. Шаманин, Е.А. Салина	1	49
Шаркова Т.С. см. Е.И. Корниенко, Л.Ю. Кокаева, Е.Н. Биланенко, В.Л. Мокеева, Т.С. Шаркова, А.А. Осмоловский	3	206
Шахова Н.В. см. С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина, С.В. Волобуев, Ю.А. Ребриев, А.Г. Ширияев, Ю.Р. Химич, В.А. Власенко, А.В. Леострин, Н.В. Шахова, А.В. Власенко, Т. Дэжидмаа, О.Н. Ежов, И.В. Змитрович	6	404
Шахова Н.В., Волобуев С.В. Культуральные характеристики и ферментативная активность штаммов <i>Sarcodon-tia crocea</i> (<i>Basidiomycota</i>) с территории Среднерусской возвышенности	6	446
Шевчук С.В. см. И.В. Змитрович, С.В. Шевчук	4	305
Шелехова О.М. см. Н.А. Павлюк, О.М. Шелехова, С.В. Нестерова	5	378
Широких А.А. см. И.Г. Широких, А.В. Бакулина, Я.И. Назарова, А.А. Широких, Л.М. Козлова	1	59
Широких И.Г., Бакулина А.В., Назарова Я.И., Широких А.А., Козлова Л.М. Влияние <i>Streptomyces castelarensis</i> A4 на заболеваемость и урожайность зерновых культур полевого севооборота	1	59
Ширияев А.Г. см. Ю.А. Ребриев, Е.М. Булах, Н.А. Сазанова, А.Г. Ширияев	4	278
Ширияев А.Г. см. С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина, С.В. Волобуев, Ю.А. Ребриев, А.Г. Ширияев, Ю.Р. Химич, В.А. Власенко, А.В. Леострин, Н.В. Шахова, А.В. Власенко, Т. Дэжидмаа, О.Н. Ежов, И.В. Змитрович	6	404
Шумилова Л.П., Павлова Л.М. Видовое разнообразие культивируемых микромицетов в буро-таежных почвах северо-востока Амурской области	2	124
Якоби Л.М., Железняков С.В., Лебедева В.К., Сметанин Р.В. Изучение структурно-функциональной организации арбускулярной микоризы у исходной и мутантной линий люцерны хмелевидной (<i>Medicago lupulina</i>) при разных способах инокуляции грибом <i>Rhizophagus irregularis</i>	3	174